

Setiadiputri, Juliani Nurazizah. 2018. **Sintesis dan Karakterisasi Biokomposit Hidroksiapatit-Alginat-Zinc Sebagai Bone graft Untuk Penanganan Bone Defect**. Skripsi dibawah bimbingan Drs. Djony Izak Rudyardjo, M.Si dan Drs. Adri Supardi,MS. Program Studi S1 Teknik Biomedis, Departemen Fisika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.

---

### ABSTRAK

Patah tulang merupakan salah satu permasalahan kesehatan yang sangat sering terjadi di seluruh dunia yang disebabkan oleh kecelakaan, cacat, kurangnya mineral, trauma, dan pola aktivitas yang buruk. Penanganan dengan menggunakan bagian tubuh pasien, pendonor, maupun hewan sebagai penyangga tulang masih menimbulkan dampak negatif bagi penderita patah tulang. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk membantu mengatasi permasalahan pada kasus patah tulang menggunakan *bone graft* dengan bahan dasar hidroksiapatit, alginat, dan *zinc*. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode *simple mixing* untuk pelarutan setiap bahan dan *freeze drying* untuk pengeringan. Uji FTIR menunjukkan *bone graft* hidroksiapatit-alginat-*zinc* memiliki gugus N-O dari *zinc* pada bilangan gelombang  $1384,89\text{ cm}^{-1}$ , gugus  $\text{COO}^-$  milik alginat pada bilangan gelombang  $1643,35\text{ cm}^{-1}$  sampai  $1413,82\text{ cm}^{-1}$ , dan gugus fosfat dari hidroksiapatit pada bilangan gelombang  $1157,29\text{ cm}^{-1}$  sampai  $570,93\text{ cm}^{-1}$ . Hasil uji porositas menunjukkan persentase pori telah mencapai 70,1420% sampai 88,3251%. Hasil uji kuat tekan sebesar 3,3233 MPa sampai 9,0107 MPa. Karakteristik morfologi menunjukkan permukaan penampang dengan tingkat kekasaran yang tinggi pada keseluruhan sampel *bone graft* yang menunjukkan bahwa hidroksiapatit telah terdistribusi secara merata serta ukuran pori yang mencapai range  $103,77\text{ }\mu\text{m}$  –  $159,20\text{ }\mu\text{m}$  pada sampel dengan karakteristik terendah dan  $130,67\text{ }\mu\text{m}$  -  $137,43\text{ }\mu\text{m}$  pada sampel dengan karakteristik terbaik. *Bone graft* dengan bahan dasar hidroksiapatit-alginat-*zinc* memiliki potensi sebagai kandidat dalam penanganan kasus kerusakan tulang *cancellous* berdasarkan persentase porositas, ukuran pori, dan nilai *compressive strength*.

Kata kunci : *bone graft*, hidroksiapatit, alginat, *zinc*.

Setiadiputri, Juliani Nurazizah. 2018. **Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite-Alginate-Zinc Biocomposite as a Bone graft for Bone Defect Handling**. Thesis under guidance of Drs. Djony Izak Rudyardjo, M.Si and Drs. Adri Supardi,MS. Biomedical Engineering, Department of Physics, Faculty of Science and Technology, Airlangga University.

---

### ABSTRACT

Bone deflection is one of health problems which is very frequently suffered throughout the world. This health problem is caused by accidents, disabilities, lack of minerals, trauma, and bad daily activity habits. Handling the damaged bones by using the patient's body part, donor, or animal as a bone graft can still cause a negative impact for the patients. Therefore, this study aims to overcome the aforementioned problems in the case bone fracture by using bone graft with hydroxyapatite, alginate, and zinc as base materials. This research was conducted by using a simple mixing method for dissolve each material and freeze drying as the equipment for drying purpose. Result from FTIR test shows that bone graft of hydroxyapatite-alginate-zinc has N-O group of *zinc* at wave number  $1384,89\text{cm}^{-1}$ ,  $\text{COO}^-$  group of alginate at wave number  $1643,35\text{ cm}^{-1}$  to  $1413,82\text{ cm}^{-1}$ , and phosphate group of hydroxyapatite at wave number  $1157,29\text{ cm}^{-1}$  to  $570,93\text{ cm}^{-1}$ . Porosity test results showed the percentage of pores has reached the range from 70.1420% to 88.3251%. The result of compressive strength test is 3,3233 MPa to 9,0107 MPa. Morphological characteristics displayed a cross-sectional surface with a high degree of roughness in all bone graft samples indicating that hydroxyapatite has been uniformly distributed and the pore size has reached  $103,77\text{ }\mu\text{m}$  to  $159,20\text{ }\mu\text{m}$  in the lowest characteristics sample and  $130,67\text{ }\mu\text{m}$  to  $137,43\text{ }\mu\text{m}$  in the best characteristics sample. Bone graft with hydroxyapatite-alginate-*zinc* base material has a potential to become a candidate in handling cases such as cancellous bone damage based on porosity percentage, pore size, and compressive strength value.

Keywords : bone graft, hydroxyapatit, alginate, zinc.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Sintesis dan Karakterisasi Biokomposit Hidroksiapatit-Alginat-Zinc Sebagai Bone graft untuk Penanganan Bone Defect**”. Skripsi ini dibuat untuk memenuhi prasyarat menyelesaikan mata kuliah skripsi untuk memenuhi prasyarat mendapatkan gelar Sarjana Teknik pada Program Studi S1 Teknik Biomedis, Departemen Fisika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.

Dengan adanya skripsi ini, diharapkan penulis dapat melakukan penelitian dengan baik dan menghasilkan karya yang bermanfaat bagi dunia teknik dan kedokteran. Selain itu, dengan adanya skripsi ini diharapkan dapat membantu adik-adik angkatan dalam mengangkat sebuah topik penelitian dan melakukan penyusunan penelitian. Skripsi ini dapat diselesaikan berkat kerja keras dan juga dukungan serbagai pihak yang telah membantu penyusunan skripsi ini sehingga dapat diselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih, terutama kepada :

1. Denny Setiadi dan Ratu Raja Alexandra Wuryaningrat selaku kedua orangtua penyusun yang telah memberikan motivasi, dukungan, dan doa kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Dr. Moh. Yasin, M.Si selaku Ketua Departemen Fisika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
3. Dr. Khusnul Ain, S.T M.Si selaku Ketua Program Studi S1 Teknik Biomedis, Departemen Fisika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
4. Akif Rahmatillah S.T., M.T. selaku dosen wali yang telah membimbing dan memberi saran, arahan, dan waktunya kepada penulis selama menempuh perkuliahan.

5. Drs. Djony Izak Rudyardjo, M.Si. selaku pembimbing I yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dalam penyusunan skripsi, berupa saran, arahan, dan waktunya kepada penulis.
6. Drs. Adri Supardi, MS. Selaku pembimbing II yang telah memberikan masukan, arahan, bimbingan, dan waktunya kepada penulis.
7. Dr. Ir Aminatun, M.Si. selaku penguji yang telah memberikan masukan, arahan, dan bimbingannya kepada penulis.
8. Franky Chandra Satria Arisgraha, S.T., M.T. Selaku penguji II yang telah memberikan masukan, arahan, dan bimbingannya kepada penulis
9. Dosen-dosen S1 Teknik Biomedis yang telah mendidik serta memberikan wawasan ilmu selama penulis dalam bangku perkuliahan
10. Bu Endang selaku bagian administrasi prodi S1-Teknik Biomedis yang telah banyak membantu urusan perkuliahan dan skripsi.
11. Hana Zahra Aisyah, Agisa Prawesti, dan Putri Desyantasari yang telah memberikan motivasi, dukungan, dan doa.
12. Dian Qurrota, Dhiva Avryan, dan Fakhrudin Eka Prasetyo yang telah membantu dan memberikan dukungan kepada penulis selama berkuliah di Surabaya.
13. Shabrina Ayu Margirizki yang telah membantu dalam memecahkan permasalahan dalam menjalankan penelitian skripsi.
14. Teman-teman Surabaya *Family of Rain City* (SAFARY) yang telah memberikan dukungan dan motivasi selama penulis berkuliah di Surabaya.
15. Teman-teman S1-Teknik Biomedis 2014 yang telah saling mendukung, membantu, dan memotivasi.
16. Pihak-pihak lain yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk mengembangkan skripsi ini.

Surabaya, 28 Juni 2018

Juliani Nurazizah Setiadiputri

**DAFTAR ISI**

LEMBAR JUDUL .....	i
LEMBAR PERSETUJUAN .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
PEDOMAN PENGGUNAKAN SKRIPSI .....	iv
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN .....	v
ABSTRAK .....	vi
<i>ABSTRACT</i> .....	vii
KATA PENGANTAR .....	viii
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	7
1.3 Tujuan Penelitian .....	7
1.4 Manfaat Penelitian .....	7
1.5 Batasan Masalah .....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	9
2.1 Tulang .....	9
2.1.1 Struktur Tulang .....	9

2.1.2 Fisiologi Tulang .....	12
2.2 Kerusakan Tulang .....	14
2.3 <i>Bone graft</i> .....	19
2.4 Hidroksiapatit .....	21
2.5 Alginat .....	23
2.6 <i>Zinc</i> .....	26
2.7 Mekanisme Interaksi HA-Alginat- <i>Zinc</i> .....	28
2.8 Karakterisasi Sampel .....	30
2.8.1 Uji Spektroskopi (FTIR) .....	30
2.8.2 Uji Kuat Tekan .....	33
2.8.3 Uji Morfologi (SEM) .....	34
2.8.4 Uji Porositas .....	36
BAB III METODE PENELITIAN .....	37
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	37
3.1.1 Tempat Penelitian .....	37
3.1.2 Waktu Penelitian .....	38
3.2 Bahan dan Alat Penelitian .....	38
3.2.1 Bahan Penelitian .....	38
3.2.2 Alat Penelitian .....	38
3.3 Diagram Alir Penelitian .....	39
3.4 Prosedur Penelitian .....	40
3.4.1 Pembuatan Sampel Biokomposit Hidroksiapatit- Alginat- <i>Zinc</i> .....	40



## DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
2.1	Kandungan Mineral Pada Tulang Manusia	10
2.2	Sifat Fisika Hidroksiapatit	23
3.1	Data Variasi Komposisi Sampel	41
4.1	Data Bilangan Gelombang Hasil FTIR Hidroksiapatit- <i>Alginat-Zinc</i>	51
4.2	Data Hasil Pengujian <i>Compressive strength Bone Graft</i> Hidroksiapatit- <i>Alginat-Zinc</i>	54
4.3	Ukuran Pori <i>Bone graft</i> Hidroksiapatit- <i>Alginat-Zinc</i>	59
4.4	Hasil Uji Porositas <i>Bone graft</i> Hidroksiapatit- <i>Alginat-Zinc</i>	60

## DAFTAR GAMBAR

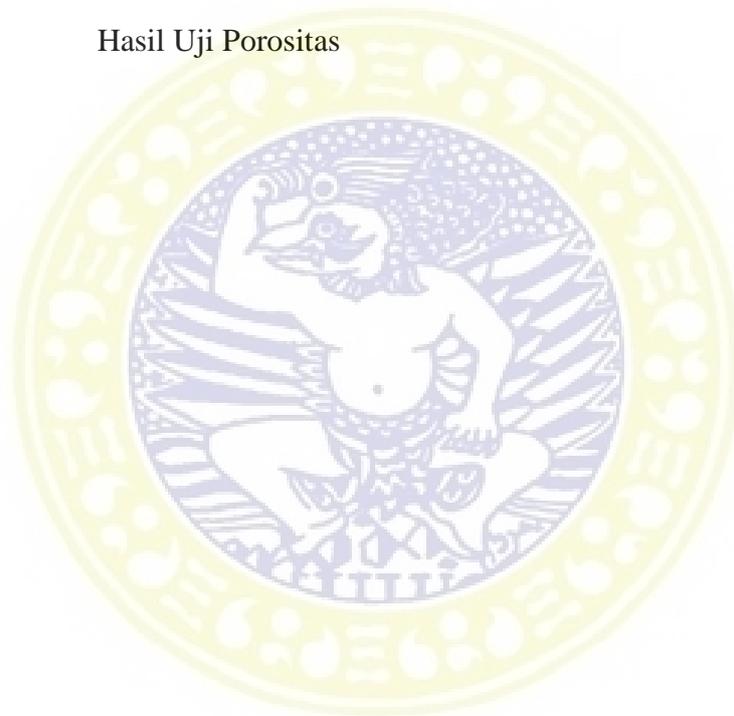
Nomor	Judul Gambar	Halaman
2.1	Struktur Tulang Panjang	12
2.2	Fraktur pada Tulang Femur	15
2.3	Struktur Asam Alginat	24
2.4	Struktur Polimanuronat, Poliguluronat, dan Kopolimer Polumannuronat-poliguluronat berselang	25
2.5	Struktur <i>Zinc</i> Nitrat	28
2.6	Ikatan Antara Ion <i>Zinc</i> dan Alginat	29
2.7	Ikatan Antara $\text{Ca}^{2+}$ dan Alginat	30
2.8	Skema alat spektroskopi FTIR	32
2.9	Bagian-bagian SEM	35
3.1	Diagram Alir Prosedur Penelitian	40
4.1	Hasil Sintesis <i>Bone graft</i> Hidroksiapatit-Alginat- <i>Zinc</i>	46
4.2	Spektrum FTIR Hidroksiapatit	47
4.3	Spektrum FTIR Alginat	47
4.4	Spektrum FTIR <i>Zinc</i>	48
4.5	Spektrum FTIR <i>bone graft</i> Sampel A	48
4.6	Spektrum FTIR <i>bone graft</i> Sampel B	49
4.7	Spektrum FTIR <i>bone graft</i> Sampel C	49
4.8	Spektrum FTIR <i>bone graft</i> Sampel D	50
4.9	Spektrum FTIR <i>bone graft</i> Sampel E	50
4.10	Grafik Hubungan Variasi Komposisi Alginat dan <i>Zinc</i>	55

	dengan <i>Compressive strength</i>	
4.11	Hasil Uji SEM dengan Perbesaran 250x (a) Sampel A (b) Sampel E	58
4.12	Grafik Hasil Uji Porositas <i>Bone graft</i> Hidroksiapatit- Alginat-Zinc	62



**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Nomor</b>	<b>Judul Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1	Alat dan Bahan	71
2	Hasil Uji FTIR	75
3	Hasil Uji <i>Compressive strength</i>	80
4	Hasil Uji SEM	89
5	Hasil Uji Porositas	90



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang Masalah

Tulang merupakan bagian yang penting bagi tubuh manusia. Tanpa tulang, manusia tidak dapat mempunyai bentuk tubuh dan tidak dapat bergerak karena peran tulang pada tubuh manusia adalah sebagai alat gerak pasif sehingga dapat membantu timbulnya gerakan pada tubuh manusia dan sebagai pegungkit bagi otot sehingga otot bertugas untuk memberikan kekuatan sedangkan tulang bertugas sebagai tuas dan sendi sebagai penumpu dari pegungkit agar terjadi sebuah gerakan. Selain itu, tulang juga berfungsi untuk melindungi organ vital, sebagai media terjadinya pertumbuhan, mengendalikan homeostatis mineral, asam, dan basa. Kerusakan yang terjadi pada tulang pada umumnya disebabkan oleh kecelakaan, cacat, kurangnya mineral di dalam tulang, trauma, dan efek samping dari pola aktivitas yang buruk.

Pada tahun 2009, *World Health Organization* (WHO) menyebutkan bahwa sekitar 200 juta orang di seluruh dunia menderita kerusakan tulang dan diperkirakan setiap tahunnya akan meningkat sebanyak 6,3 juta orang yang mengalami patah tulang terutama pada bagian panggul yang setengahnya terjadi di Asia pada tahun 2050 yang akan mengakibatkan kecacatan hingga kematian (Tandra, 2009). Badan kesehatan *Amerika Serikat National Osteoporosis Foundation* pada tahun 1997 memperkirakan sekitar 20-25 juta

penduduk mengalami kerusakan tulang berupa osteoporosis, 1 dari 2 sampai 3 merupakan wanita yang telah mengalami menopause. International Osteoporosis Foundation pada tahun 2009 menyebutkan bahwa jumlah penderita kerusakan tulang berupa osteoporosis di China mencapai 70 juta dengan usia penderita diatas 50 tahun, patah tulang yang terjadi di Jepang pada penduduk dengan usia 75 tahun meningkat drastis dalam 12 tahun, sedangkan di Hongkong penderita patah tulang pada bagian pinggul meningkat hingga 300% pada empat dekade terakhir. Menurut Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Republik Indonesia tahun 2013 pada Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) menyebutkan bahwa kasus patah tulang di Indonesia yang diakibatkan trauma oleh benda tajam sebesar 7,7%, kecelakaan lalu lintas sebesar 56,7%, dan terjatuh sebesar 3,7%.

Kerusakan tulang pada pinggul terus meningkat sebanyak 3 kali pada pria dan meningkat 2 kali pada wanita. Kerusakan tulang pada bagian paha dapat mengakibatkan cacat seumur hidup dan kematian sebanyak 50%. Sedangkan Sistem Informasi Rumah Sakit (SIRS) pada tahun 2010 menyebutkan bahwa kasus patah tulang yang terjadi pada usia 40 tahun yaitu sebanyak 200 dari 100.000 kasus yang terjadi (Triono, 2015). Kerusakan tulang berupa fraktur atau patah tulang lebih banyak dialami oleh usia lanjut karena tulang sudah melemah dan sudah tidak kuat menahan beban. Akan tetapi bukan tidak mungkin anak-anak tidak memiliki resiko kerusakan tulang, gaya hidup yang aktif dapat menimbulkan resiko patah tulang.

Sedangkan pada kalangan atlet olahraga juga memiliki resiko patah tulang yang tinggi karena tulang terus menerus diberi tekanan berulang kali.

Patah tulang ini dapat menimbulkan rasa sakit yang berkepanjangan karena menjalar pada tulang, otot, dan sendi yang berada di dekat lokasi fraktur. Dengan adanya rasa sakit ini, orang tersebut secara otomatis akan mengubah cara dalam melakukan aktivitasnya untuk menghindari rasa sakit tersebut, selain itu rasa sakit ini juga dapat mempengaruhi kualitas hidup, tidur, dan *mood* sehingga terkadang orang yang mengalami patah tulang akan merasa depresi.

Selain timbul rasa sakit, patah tulang dapat menimbulkan masalah pada pergerakan, seperti patah tulang pada bagian pinggul dan tulang belakang akan menyulitkan orang tersebut dalam membuat gerakan memutar. Gerakan lain seperti berjalan, membungkuk, mendorong, dan menarik juga akan sulit untuk dilakukan karena terbatasnya ruang gerak pada tulang tersebut. Bila orang tersebut memilih untuk mengurangi aktivitas yang menimbulkan pergerakan maka akan timbul penyakit lain seperti penyakit jantung, kanker, diabetes tipe 2, dan gangguan mental.

Kemudian patah tulang juga dapat menimbulkan masalah emosional, orang tersebut akan sulit bersosialisasi karena sulitnya untuk pergi keluar rumah, mengikuti aktivitas seperti orang-orang pada umumnya, dan sulitnya bertemu orang lain. Dengan berkurangnya tingkat sosialisasi seseorang maka akan menimbulkan emosi, kegelisahan, dan keputusasaan. Patah tulang pada bagian tulang belakang akan menyebabkan orang tersebut sulit untuk

membungkuk, bersandar, dan memutarnya. Tulang tersebut juga akan semakin mudah untuk hancur karena menahan beban pada tubuh. Jika lebih dari satu vertebra yang rusak maka orang tersebut kemungkinan akan memiliki postur tubuh yang bungkuk yang dapat menyebabkan rasa sakit yang sangat kuat dan mempengaruhi organ lain seperti paru-paru, usus, dan jantung. Jika patah tulang terjadi pada bagian pinggul, maka akan mempengaruhi pergerakan, sehingga timbulah gangguan saat tidur, pembekuan darah di kaki atau paru-paru, kehilangan otot, dan pneumonia. Kemudian jika patah tulang terjadi pada pergelangan tangan dan lengan bawah akan menimbulkan rasa sakit dan gangguan dalam melakukan aktivitas sehari-hari.

Untuk menangani masalah yang timbul akibat patah tulang tersebut, diperlukan adanya pencangkokan tulang (*bone graft*) pada bagian tulang yang patah agar sel-sel tulang dapat mengisi bagian tulang yang kosong dan beregenerasi untuk mengembalikan fungsi tulang tersebut (Ferdiansyah, 2011). *Bone graft* merupakan cangkok tulang yang biasanya berasal dari tubuh orang tersebut, pendonor, atau buatan manusia. *Bone graft* tersebut membantu menyediakan ruang bagi kerangka tulang baru yang akan hidup dan tumbuh di tempat yang kosong tersebut. Jaringan yang diambil dari tubuh manusia jumlahnya terbatas dan akan menimbulkan defek lainnya, sehingga *bone graft* buatan manusia menjadi alternatif dalam penggunaannya sebagai cangkok tulang saat ini karena dapat meminimalkan resiko terkontaminasi bakteri dan virus, tidak menimbulkan defek pada bagian tubuh lainnya

karena tidak adanya pengambilan jaringan pada tubuh, dan dapat selalu tersedia. *Bone graft* memiliki fungsi untuk menyokong bagian tulang yang kosong, maka *bone graft* akan membantu tulang dalam memberi *space* bagi sel-sel tulang yang baru untuk tumbuh atau osteogenesis, memberi jalan bagi pembuluh untuk menutrisi sel-sel tulang, merekonstruksi diri, menstabilkan struktur, dan memperkuat ikatan pada sel tulang yang baru.

Bahan utama dalam pembuatan *bone graft* adalah hidroksiapatit yaitu senyawa keramik yang memiliki sifat yang hampir sama dengan tulang yaitu mengandung mineral, protein, dan kolagen. Hidroksiapatit ini dipilih karena memiliki sifat yang pas jika diaplikasikan di dalam tubuh manusia yaitu bersifat biokompatibilitas, dapat terdegradasi, bioaktif, dan osteokonduktif (Sarbijt, 2013). Disamping kelebihan yang dimiliki oleh hidroksiapatit, terdapat pula kelemahannya yaitu memiliki sifat *brittle* (rapuh) karena porositas yang tinggi menyebabkan kuat tekan yang rendah, sehingga hidroksiapatit mudah hancur bila terkena beban atau gaya yang kecil maupun besar. Untuk mengatasi sifat *brittle* pada hidroksiapatit, maka *bone graft* diberi tambahan alginat untuk mengurangi sifat *brittle*.

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Ova (2013) mengenai komposit hidroksiapatit-alginat menyatakan bahwa penambahan alginat sebanyak 12% pada *bone graft* pada saat dikompaksi dengan tekanan 3 ton memberikan nilai *compressive strength* sebesar 3,061 MPa. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Trisnawati (2014) mengenai komposit hidroksiapatit-alginat menyatakan bahwa penambahan alginat sebanyak 14%

memberikan nilai *compressive strength* sebesar  $5,68 \pm 2,1$  MPa. Besarnya nilai *compressive strength* tersebut masih belum optimal bila diaplikasikan sebagai *bone graft* untuk tulang spongius yang memiliki nilai *compressive strength* sebesar 7,5-41 MPa.

Untuk itu perlu dilakukan upaya untuk lebih meningkatkan sifat mekanik *bone graft* agar kualitasnya menjadi lebih optimal lagi. Pengoptimalan kekuatan pada *bone graft* dapat dilakukan dengan menambahkan komposisi *zinc* yang tepat karena *zinc* dapat meningkatkan sifat mekanik *bone graft*.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Cuozzo *et al.* (2014) menyatakan bahwa penambahan *zinc* membuat struktur *bone graft* menjadi lebih kompak karena ion *zinc* yang kecil yaitu dengan jari-jari atom sebesar 134 pm dapat menempati volume yang kecil, selain itu *zinc* juga memiliki afinitas untuk asam guluronik dan manuronat yang menyebabkan penarikan dan ikatan antar atom yang lebih kuat. Kemudian *zinc* juga ditambahkan sebagai bahan penyusun *bone graft* karena *zinc* dapat menghambat aktivitas *osteoclast*, merangsang aktivitas fosfatase alkalin, dan memicu sintesis protein untuk pertumbuhan tulang seperti *osteocalcin*. (Cuozzo, *et al.* 2014)

Berdasarkan latar belakang yang sudah diuraikan tersebut, fokus penelitian yang akan diteliti adalah sintesis dan karakterisasi biokomposit hidroksiapatit-alginat-*zinc* sebagai *bone graft* untuk penanganan *bone defect*. Variasi penambahan alginat-*zinc* yang menghasilkan karakteristik yang optimum diharapkan akan diketahui dari penelitian ini. *Bone graft*

hidroksiapatit-alginat-*zinc* yang telah terbentuk akan dikarakterisasi untuk mengetahui sifat-sifatnya dengan menggunakan uji *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) untuk mengetahui gugus fungsi, *Scanning Electron Microscopy* (SEM) untuk melihat morfologi permukaan, uji porositas untuk mengetahui persentase ruang pori yang terbentuk, dan uji *Compressive strength* untuk mengetahui kuat tekan.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh variasi komposisi alginat-*zinc* terhadap karakteristik *bone graft* hidroksiapatit-alginat-*zinc*?
2. Berapa komposisi alginat-*zinc* untuk mendapatkan *bone graft* hidroksiapatit-alginat-*zinc* dengan karakteristik terbaik?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh variasi komposisi alginat-*zinc* terhadap karakteristik *bone graft* hidroksiapatit-alginat-*zinc*.
2. Menentukan komposisi alginat-*zinc* untuk mendapatkan *bone graft* hidroksiapatit-alginat-*zinc* dengan karakteristik terbaik.

## 1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

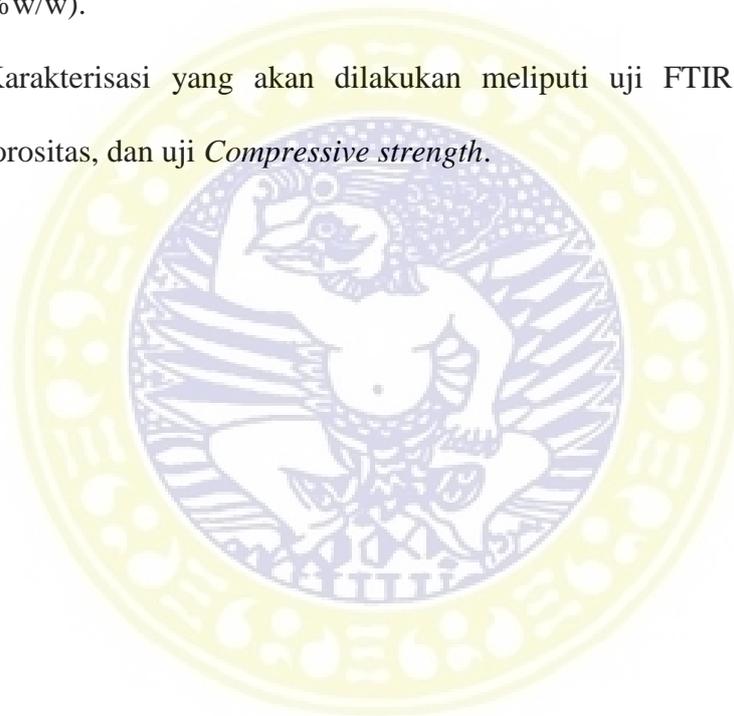
Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh variasi komposisi hidroksiapatit-alginat-*zinc* terhadap produk biomaterial yang dapat dimanfaatkan sebagai *bone graft*.

## 2. Manfaat Praktis

Menjadi dasar penelitian mengenai biokomposit hidroksiapatit-alginat-*zinc* yang berpotensi sebagai *bone graft*.

### 1.5 Batasan Masalah

1. Variasi komposisi hidroksiapatit-alginat-*zinc* yang dibuat adalah 88:2:10 (%w/w), 88:4:8 (%w/w), 88:6:6 (%w/w), 88:8:4 (%w/w) dan 88:10:2 (%w/w).
2. Karakterisasi yang akan dilakukan meliputi uji FTIR, uji SEM, uji porositas, dan uji *Compressive strength*.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Tulang

Tulang memiliki struktur dan fisiologi tersendiri pada setiap penyusunnya dan di setiap lokasi. Kerusakan tulang dapat menyebabkan berbagai hal yang dapat menurunkan kualitas hidup seseorang.

##### 2.1.1 Struktur Tulang

Tulang merupakan bagian dari sistem penggerak pada tubuh manusia yang terdiri dari matriks tulang dengan materi penyusunnya adalah sel berkapur. Tulang terdiri dari 3 jenis sel yaitu osteosit, osteoblas, dan osteoklas. Osteosit merupakan sel osteoblas yang terdapat pada tulang saat tulang mengalami proses pembentukan dan mineralisasi tulang. Sel yang berasal dari sel induk *mesenchymal* dan terletak pada sum-sum tulang belakang merupakan sel osteoblas atau yang biasa disebut dengan *osteoblastic stromal cell* yang berfungsi untuk memodulasi pembentukan tulang yang baru. Sedangkan osteoklas yang merupakan sel yang berperan saat terjadi proses resorpsi tulang. Selain 3 sel utama penyusun tulang, terdapat *lining cells* yang merupakan sel osteoblas yang sedang istirahat (Junqueira, 2007).

Tulang tersusun atas 80% komponen organik seperti kolagen dan 20% komponen anorganik merupakan mineral-mineral seperti

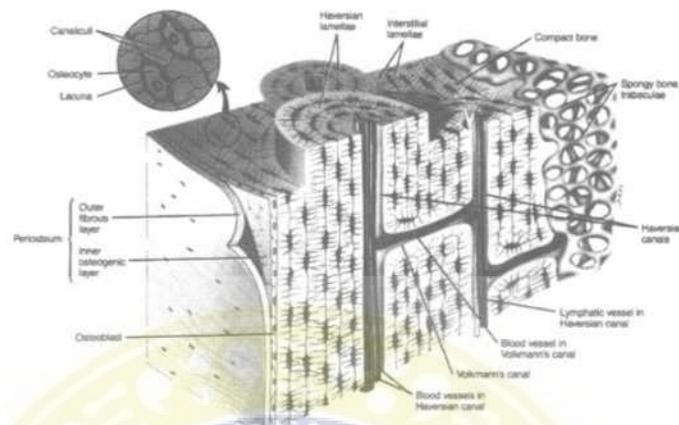
yang ditunjukkan pada Tabel 2.1. Kolagen pada tulang berperan dalam memberikan energi untuk absorpsi dan fleksibilitas tulang, sedangkan mineral pada tulang berperan dalam membentuk struktur tulang yang kuat dan kaku. Kedua sifat dari komponen penyusun tulang tersebut menjadikan tulang yang dapat mencegah patah pada tulang dan menahan stres pada beban yang diberikan. Apabila komponen organik dan anorganik pada tulang tidak seimbang maka kekuatan tulang akan menurun. Molekul kolagen berperan dalam memberikan tulang kekuatan tarik dengan adanya *cross-link* yang terbentuk. Sedangkan mineral pada tulang yang terdiri dari kalsium dan fosfat yang berada di dalam kristal hidroksiapatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH}_2)$ ) berperan dalam meningkatkan kekuatan mekanis pada tulang yang membantu kolagen dalam memberi sifat *tensile* dan elastisitas (Rogers, 2011).

**Tabel 2.1** Kandungan Mineral pada Tulang Manusia (Dewi, 2009)

Mineral	Kandungan (%)
Ca	34,00
P	15,00
Mg	0,50
Na	0,80
K	0,20
C	1,60
Cl	0,20
F	0,08
Residual	47,62

Terdapat 2 tipe tulang pada kerangka orang dewasa yaitu tulang kortikal (*compact*) yang membentuk sebuah *envelope* di sekitar rongga sum-sum yang terbentuk dari sistem harvesian dengan komponen sebesar 80% dan tulang trabekular (*spongy* atau *cancellous*) yang mengisi bagian tengah tulang dan terdiri dari interkoneksi *meshwork* yang dipisahkan oleh ruang yang penuh dengan sum-sum tulang dengan komponen sebesar 20% seperti yang terlihat pada Gambar 2.1 yang menunjukkan komposisi tulang panjang dan berbagai saluran yang berada di dalam tulang. Tulang kortikal memiliki susunan yang rapat sehingga memberi kekuatan pada tulang, sebagai pelindung, dan memenuhi sebagian besar struktur tulang. Sedangkan tulang trabekular memiliki struktur seperti spon yang memiliki banyak rongga, sehingga kepadatannya rendah yang mengakibatkan tulang trabekular tidak sekuat tulang kortikal dan memiliki luas permukaan yang lebih besar, sehingga memudahkan terjadinya proses metabolik secara aktif pada tulang. Karena sifatnya ini, tulang trabekular lebih mudah mengalami proses *remodelling* karena lebih mudah terpengaruh oleh kondisi yang terkait dengan pergantian tulang, akan tetapi tulang trabekular lebih rentan mengalami kehilangan massa tulang dibandingkan tulang kortikal (David, 2011). Dengan masing-masing struktur dan sifat yang dimiliki oleh kedua tipe tulang ini maka akan menghasilkan kekuatan mekanik yang berbeda, nilai *compressive strength* pada tulang kortikal

mencapai 138-190 MPa, sedangkan pada tulang spongy hanya sebesar 7,5-41 MPa (Ylinen, 2006).



**Gambar 2.1** Struktur Tulang Panjang (Tortora, 1983)

### 2.1.2 Fisiologi Tulang

Tulang memiliki fungsi yang sangat penting bagi tubuh yaitu sebagai kerangka yang menopang tubuh manusia, dan tempat otot melekat agar tubuh dapat melakukan pergerakan secara maksimal. Selain itu tulang juga berfungsi sebagai pemberi bentuk tubuh dan melindungi organ-organ bagian dalam (Triono, 2015).

Tulang mempunyai sifat untuk tumbuh dan berkembang sesuai dengan asupan nutrisi atau yang biasa disebut *modelling* seperti pada proses pertumbuhan manusia mulai dari kelahiran sampai dewasa terjadi penambahan panjang dan diameter dari tulang. Apabila struktur tulang rusak atau tidak sesuai dengan semestinya maka tulang juga memiliki kemampuan untuk menyusun kembali strukturnya dengan cara mengganti jaringan lama dengan jaringan baru melalui suatu

proses pembentukan tulang dan resorpsi tulang yang saling berikatan dengan jaringan tulang sekitarnya atau yang biasa disebut dengan *remodelling* (David, 2011).

*Remodelling* terjadi di dalam rongga tulang yang perlu dimodifikasi ulang. Di dalam rongga ini terdapat osteoklas dan osteoblas yang terhubung dengan pembuluh darah dan berinervasi dengan perifer (Matsuo, 2008). Kompartemen *remodelling* tulang terhubung dengan sel tulang yang berada di permukaan, kemudian terhubung dengan osteosit yang tertutup di dalam matriks tulang (Andersen, 2009). Siklus *remodelling* tulang dimulai dengan fase inisiasi yaitu terjadinya resorpsi tulang oleh osteoklas, kemudian fase transisi atau pembalikan, dan fase pembentukan tulang yang dilakukan oleh osteoblas. Pada siklus ini terjadi karena osteosit dan sel-sel tulang yang saling berkoordinasi (Sims, 2008).

Proses *remodelling* yang terjadi akan mempengaruhi sifat-sifat dari tulang tersebut walaupun tidak merubah struktur tulang secara keseluruhan. *Remodelling* terjadi sebanyak 5-10% pada tulang orang dewasa dan terjadi secara tidak merata. Pada tulang trabekular biasa terjadi *remodelling* sebesar 80%, sedangkan pada tulang kortikal hanya sebesar 20% (David, 2011).

## 2.2 Kerusakan Tulang

Kerusakan tulang atau *bone defect* merupakan pengurangan massa atau hancurnya jaringan pada tulang yang biasanya disebabkan oleh trauma, kelainan kongenital, tumor, degenerasi, dan penyakit lainnya (Ferdiansyah, 2011). Kerusakan tulang dibagi menjadi 2 jenis berdasarkan luasnya yaitu kerusakan tulang kecil dan kerusakan tulang besar (*Massive bone defect*) yang ditandai dengan adanya *gap* dengan ukuran 2 kali dari diameter tulang. Penanganan pada kerusakan tulang kecil dapat ditangani dengan menggunakan cangkok tulang kecil, substitusi material tulang, pemberian *growth factor*, injeksi darah sumsum tulang, dan pemberian *stem cells*. Sedangkan pada kerusakan tulang besar dapat ditangani dengan operasi untuk rekonstruksi bagian tulang yang hilang (Bakker, 2008).

Dari hasil *survey* Depkes RI pada 8 juta orang, kerusakan tulang berupa patahnya tulang (fraktur) dengan jenis dan penyebab yang berbeda 25% diantaranya mengalami kematian akibat patah tulang, cacat fisik sebesar 45%, stress psikologis 15%, dan mengalami kesembuhan sebesar 10% (Depkes RI, 2009).



**Gambar 2.2** Fraktur *calcaneus* kanan, *navicular* dan *cuboideus*, dan dislokasi sendi *calaneocuboid* dan *talonavicular* (a) (Jiang, 2016) Fraktur tulang tibia dan fibula (b) Fraktur femur kanan (c) (Lin, 2016)

Tulang memiliki struktur hirarkis yang memberikan kekuatan, fungsi, dan mekanisme ketangguhan untuk menahan terjadinya fraktur. Fraktur akan terjadi dimulai dari tingkat struktural terkecil yaitu pada skala molekul tropokolagen dan fibril kolagen yang terlepas dari tulang. Pada tingkat fraktur yang lebih kasar akan terjadi *microcracking* dan fibrillar sliding. Sedangkan pada skala mikrometer, terjadi pemutusan ikatan pada permukaan fibril dan terjadi retak sekitar 10-100 mikrometer pada sumber fraktur. Fraktur pada tulang dapat dilihat pada Gambar 2.2. Fraktur dapat menyebabkan terjadinya pelepasan faktor pertumbuhan dari matriks ekstraselular, termasuk upregulasi sitokin dan migrasi sel inflamasi dan sel endotel yang terlibat dalam proses penyembuhan fraktur tulang secara keseluruhan. Kemudian fraktur juga akan menyebabkan terjadinya apoptosis osteopati, kerusakan osteosit secara

langsung, gangguan hubungan antar kanal sel oleh *microcracks*, dan kerusakan mikro. Jika *remodelling* dan resorpsi pada fraktur tulang tidak tepat maka akan ada stuktur yang terganggu, proses penyembuhan tulang akan terganggu, timbul osteoporosis, dan akan terjadi osteoarthritis (Barth, 2010).

Fraktur dapat diperbaiki dengan kombinasi pengerasan intramembran dan endochondral. Pembentukan tulang endochondral dimulai dari luar periosteum yang berada di sebelah lokasi retak yang secara mekanik kurang stabil. Pada bagian internal ke periosteum akan terjadi osifikasi intramembranous dan membentuk kalus yang keras, hal ini merupakan sambungan daerah kalus yang keras pada celah yang dapat menimbulkan stabilisasi awal dan memulihkan kembali fungsi biomekanik.

Proses perbaikan fraktur tulang terdiri dari fase *overlapping*. Fase ini diawali dengan respon inflamasi yaitu memicu sel induk mesensimal dan diferensiasi menjadi kondrosit yang akan menghasilkan kartilago dan osteoblas untuk membentuk tulang. Setelah matriks kartilago yang diproduksi berubah dari mineral kartilago menjadi tulang. Pembentukan tulang primer akan terjadi *remodelling*, kalus tulang dibentuk kembali dengan cara resorpsi dan kemudian pembentukan tulang sekunder terjadi untuk mengembalikan struktur anatomi tulang. Proses biologis yang memicu tahap ini diatur oleh persinyalan molekul sel yang dibagi menjadi 3 kelompok yaitu pro-inflamasi sitokin, mengubah *growth factor-beta superfamily* (TGF- $\beta$ ), dan faktor angionenik. Aktivitas biologis molekul ini akan memicu proses biologis yang

*overlapping* dan mengkoordinasikan interaksi antara populasi sel yang berbeda (Al-Aql, 2008). Pada pemulihan fraktur tulang terdapat 5 fase yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, fase pembentukan kalus, fase konsolidasi, dan fase *remodelling*.

#### 1. Fase inflamasi

Tahap inflamasi hanya akan berlangsung beberapa hari dan akan hilang yang ditandai dengan berkurangnya pembengkakan dan nyeri pada daerah fraktur tulang. Pada fase ini akan terjadi pendarahan di dalam jaringan yang mengalami fraktur dan pembentukan hematoma di tempat terjadi fraktur. Pada ujung fragmen tulang akan terjadi devitalisasi karena tidak adanya darah yang mengalir, sehingga akan terjadi hipoksia. Kemudian inflamasi yang terjadi akan memicu ekspresi gen, pembelahan sel, dan migrasi sel menuju tempat terjadinya fraktur untuk memulai proses penyembuhan. Proses ini akan menimbulkan pembengkakan pada bagian fraktur. Monosit yang bermigrasi ke daerah fraktur akan berubah menjadi makrofag untuk proses penyembuhan tulang.

#### 2. Fase proliferasi

Pada fase proliferasi terjadi hematoma yang berorganisasi, terbentuknya benang-benang fibrin, membentuk jaringan yang baru untuk revaskularisasi, invasi fibroblas, dan invasi osteoblas. Kemudian kolagen dan proteoglikan akan dihasilkan oleh fibroblas dan osteoblas untuk membentuk matriks kolagen pada bagian fraktur, setelah itu terbentuklah jaringan ikat fibrosa dan tulang rawan. Pada periosteum akan terlihat

pertumbuhan secara melingkar, lalu kalus tulang rawan akan dirangsang oleh gerakan mikro pada lokasi fraktur. Gerakan mikro yang dibutuhkan hanya gerakan minimal, karena gerakan yang berlebihan merusak struktur kalus. Potensial elektronegatif ditandai dengan tulang yang sedang aktif tumbuh.

### 3. Fase pembentukan kalus

Pada fase ini terbentuk jaringan tulang kondrosit atau jaringan tulang rawan. Kemudian jaringan fibrosa, tulang rawan, dan serat tulang yang masih matur digabungkan dengan fragmen patahan tulang. Untuk menghubungkan jumlah kerusakan dan pergeseran tulang perlu diperhatikan bentuk dan volume kalus yang terbentuk. Untuk menggabungkan fragmen tulang dalam tulang rawan atau jaringan fibrosa diperlukan waktu sekitar 3-4minggu. Kemudian pembentukan kalus lunak akan terus berlangsung sampai fase *remodelling* yang merupakan fase kritis untuk menentukan apakah penyembuhan fraktur berhasil atau gagal.

### 4. Fase konsolidasi

Pada fase konsolidasi akan terjadi aktivitas osteoklas dan osteoblas secara terus menerus, dan tulang *immature* (*woven bone*) akan dirubah menjadi tulang *mature* (*lamellar bone*). Matriks ekstraseluler tulang rawan akan mengalami kalsifikasi yang menyebabkan kondrosit mati. Kemudian akan terbentuk tulang baru sebagai tulang rawan yang disintegrasi. Setelah itu osteosit akan berkembang dari sel mesenkim pluripoten, fibroblas, dan deposit osteoid. Fibroblas akan menuju stroma untuk membentuk

pertumbuhan pembuluh darah agar jaringan tulang yang baru mendapatkan pasokan nutrisi. Setelah itu terjadi perubahan tulang rawan menjadi tulang melalui proses osifikasi *endochondral*.

#### 5. Fase *remodelling*

Pada fase *remodelling* proses pembentukan dan penyerapan tulang dengan tekanan yang tinggi yang terjadi secara terus menerus akan menyebabkan *lamella* yang tebal terbentuk pada bagian sisi. Kemudian rongga *medulla* akan terbentuk kembali dan diameter tulang akan kembali seperti ukuran semula. Pada keadaan ini tulang dapat dikatakan telah sembuh secara klinis dan radiologi karena struktur dan fungsi tulang telah kembali seperti semula.

### 2.3 *Bone graft*

*Bone graft* merupakan metode pencangkokan tulang menggunakan suatu material untuk meningkatkan regenerasi tulang pada prosedur orthopedi (Bhatt, 2012). Di antara semua cangkokan klinis, tulang autologus masih dianggap sebagai standar emas karena semua sifat yang diperlukan dalam regenerasi tulang terdapat pada tulang autologus seperti osteokonduksi, osteoinduksi, dan osteogenesis. Karena terbatasnya tulang autologus dan resiko penularan penyakit dari pendonor maka material penyusun *bone graft* saat ini banyak menggunakan material sintesis yang banyak mengandung kalsium berbasis fosfat (CaP) seperti hidroksiapatit dan protein tulang rekombinan manusia seperti rhBMPs (Kurien, 2013).

Syarat yang harus dipenuhi oleh *Bone graft* agar dapat memperbaiki kerusakan tulang haruslah memiliki sifat osteokonduktif, osteoinduktif, dan osteogenesis. Osteokonduksi merupakan proses dimana *bone graft* secara pasif melakukan penyerapan pada kapiler, jaringan perivaskular, dan sel induk mesenkim (MSCs). Secara mikroskopis, idealnya *bone graft* memiliki struktur yang sama dengan tulang *cancellous*. Osteoinduktif merupakan proses dimana MSCs dari induk direkrut untuk berdiferensiasi menjadi kondroblas dan osteoblas untuk membentuk tulang baru melalui proses pengerasan endosteal. Proses ini biasanya dimodifikasi dengan *growth factor* seperti protein morfogenetik tulang (BMP)-2, -4, dan -7; *growth factor* turunan dari trombosit (PDGF); interleukin; *growth factor* fibroblas (FGF); faktor stimulasi koloni granulosit-makrofag; dan faktor angiogenik seperti *growth factor* endotel vaskular (VEGF). Sedangkan osteogenesis merupakan sintesis tulang baru oleh sel donor yang berasal dari induk atau *graft donor*. Sel yang terlibat dalam proses ini adalah MSC, osteoblas, dan osteosit (Timothy, 2012).

Berdasarkan material pembentuknya, *bone graft* dibagi menjadi 3 jenis yaitu *autograft*, *allograft*, dan *xenograft*. *Autograft* merupakan pemanfaatan bagian tubuh pasien yang tidak terkena *defect* sebagai *bone graft* untuk memperbaiki bagian tulang yang fraktur. Jenis *bone graft* ini dianggap sebagai standar emas dalam pencangkokan tulang karena mengandung histokompatibilitas yang lengkap, memiliki sifat osteoinduktif, osteokonduktif, dan osteogenik untuk proses penyembuhan, akan tetapi

*autograft* tidak tersedia dalam jumlah yang banyak karena keterbatasan daerah yang bisa diambil pada tubuh pasien, menimbulkan rasa sakit, resiko kehilangan darah, resiko infeksi, dan peningkatan waktu operasi.

*Allograft* merupakan *bone graft* dengan material pembentuknya diambil dari bagian tubuh individu lain dari spesies yang sejenis, biasanya juga diambil dari mayat manusia yang diproses secara steril dan ditransplantasikan ke pasien. *Allograft* yang digunakan dapat berupa osteochondral, kortikal, dan *cancellous* yang diproses kembali menjadi matriks tulang demineralisasi. Pada persiapan *allograft* terjadi penghilangan jaringan lunak dan sel dengan ethanol, kemudian diikuti dengan iradiasi gamma untuk sterilisasi bakteri, jamur, dan virus sehingga penyinaran secara negatif akan mempengaruhi sifat biologis *bone graft*, sedangkan penyinaran dengan dosis tinggi akan menghilangkan sifat osteogenik dan osteoinduktif, serta menyebabkan pemisahan radiofisis polipeptida dan radiolisis molekul air sehingga akan mengurangi integritas struktural (Flynn, 2011). *Xenograft* merupakan *bone graft* dengan bahan pembentuknya berasal dari spesies yang berbeda seperti babi dan lumbu. Untuk membuat *bone graft* yang cocok untuk diaplikasikan pada tubuh manusia, maka bahan dan sifat *bone graft* haruslah cocok dalam tubuh dan dapat menunjang perbaikan tulang.

#### 2.4 Hidroksiapatit

Hidroksiapatit merupakan mineral apatit dengan rumus kimia  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  yang dapat dijadikan biomaterial tulang dengan perbandingan Ca/P sebesar 1,67 (Dahlan *et al*, 2009). Hidroksiapatit memiliki

struktur heksagonal dengan dimensi parameter kisi hidroksiapatit pada tulang sebesar  $a=b=9,419\text{\AA}$  dan  $c=6,880\text{\AA}$  dan sudut  $\alpha=\beta=90^\circ$  dan  $\gamma=120^\circ$  (Dewi, 2009). Dengan memenuhi syarat bioaktif, biokompatibel, dan *bioresorbable* maka hidroksiapatit dapat dijadikan biomaterial yang dapat diaplikasikan di dalam tubuh manusia. Hidroksiapatit cukup aman jika dijadikan implan yang ditanamkan di dalam tubuh karena memiliki sifat *non-toxic*, bioaktif karena dapat berikatan dengan tulang, biokompatibel dengan jaringan di sekitar implan, dapat memicu pertumbuhan tulang baru karena memiliki pori yang berfungsi untuk transpor nutrisi, infiltrasi jaringan, dan vaskularisasi (Pratiwi, 2011).

Sifat hidroksiapatit seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.2 hampir sama dengan organ-organ tertentu pada manusia karena hidroksiapatit terkandung di dalam organ-organ tersebut seperti hidroksiapatit pada email gigi sebesar 95% dan pada tulang sebesar 70%. Kekuatan mekanik hidroksiapatit yang kurang baik akan sulit menahan beban jika diaplikasikan di dalam tubuh dan hanya dapat diaplikasikan di bagian tubuh yang tidak menanggung beban yang berat seperti pada telinga bagian tengah, pengisi tulang, dan pelapis pada gigi (Suryadi, 2011).

**Tabel 2.2** Sifat Fisika Hidroksiapatit (Khoirudin, 2015)

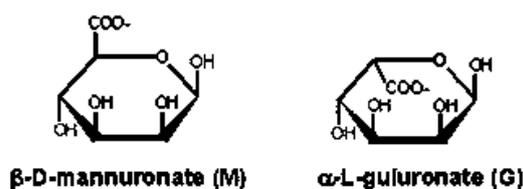
Sifat	Kadar
Modulus Elastisitas (Gpa)	40-117
Kekuatan Tekan (MPa)	294
Kekuatan Bengkok (MPa)	147
Rasio Ca/P	1,67
Densitas (g/cm <sup>3</sup> )	3,16
<i>Hardness</i> (vickers) (GPa)	3,43
Titik Leleh (°C)	1227

Persyaratan ukuran pori minimum pada hidroksiapatit adalah 100µm, sedangkan ukuran pori yang bagus untuk osteogenesis pada implan adalah 100-300µm. Semakin besar ukuran pori maka osteogenesis akan semakin mudah berlangsung karena tingkat vaskularisasi dan oksigenasi akan lebih tinggi. Akan tetapi jika porositas implan semakin tinggi maka akan menurunkan nilai *compressive strength*, sehingga implan akan semakin rapuh. Untuk mengatasi permasalahan tersebut maka perlu adanya *filler* untuk mengisi kekosongan pada hidroksiapatit agar mengurangi sifat *brittle* nya yaitu dapat menggunakan alginat dan *zinc* (Trisnawati, 2014).

## 2.5 Alginat

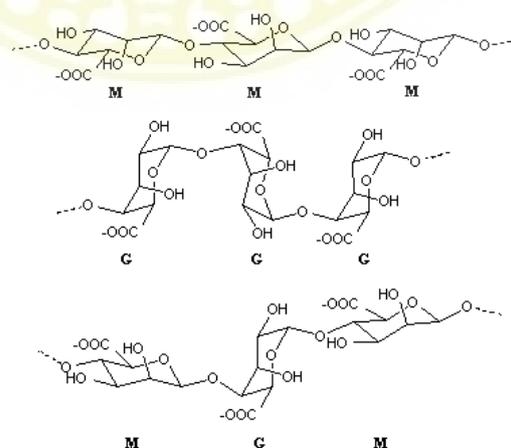
Alginat merupakan produk pemurnian karbohidrat yang diekstraksi dari alga coklat (*Phaeophyceae*) menggunakan basa lemah. Alginat juga dapat disekresikan oleh bakteri gram negatif seperti *Pseudomonas aeruginosa* dan

*Azotobacter vinelandii* karena alginat yang dihasilkan oleh bakteri ini mempunyai sifat-sifat fisika yang mirip dengan alginat yang diekstraksi dari rumput laut walaupun secara struktur kimia berbeda. Alginat yang berasal dari alga coklat merupakan *copolymer* yang terdiri dari dua monomer yaitu asam D-mannuronic dan L-guluronic seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.3. Ikatan antara mannuronic dan mannuronic-guluronic dihubungkan dengan C<sub>1</sub> dan C<sub>4</sub>, sedangkan ikatan polimer guluronic dibentuk dari struktur aksial. Alginat yang berasal dari *P.aeruginosa* dan *Azotobacter vinelandii* merupakan *copolymer* asam D-mannuronat dan asam L-guluronat yang mempunyai gugus O-asetil yang dihubungkan oleh asam D-mannuronat. Alginat memiliki berat molekul yang tinggi sekitar 240.000 sehingga sangat mudah menyerap air (Haryanto dan Sumarsih, 2008). Kemampuan alginat dalam menyerap air dipengaruhi oleh jumlah ion karboksilat, berat molekul, dan pH. Semakin banyak residu kalsium alginat atau <500 akan menyebabkan kemampuan alginat dalam mengikat air akan meningkat, sedangkan jika pH<3 akan mengakibatkan terjadinya pengendapan. Selain itu, alginat juga memiliki kemampuan untuk membentuk gel, natrium dan kalsium alginat dapat membentuk film, sedangkan kalsium alginat dapat membentuk serat (Fehragucci, 2012).



**Gambar 2.3** Struktur Asam Alginat (Sriamomsak dan Sunghongjeen, 2007)

Natrium alginat mempunyai rumus molekul  $(C_6H_7O_6Na)_{10}$ . Dengan reaksi hidrolisis ringan, alginat terbagi menjadi tiga jenis polimer asam alginat, yaitu polimannuronat yang terdiri dari asam D-mannuronat, poliguluronat yang terdiri dari asam L-guluronat, dan asam D-mannuronat yang terletak berselang-seling dengan asam L-guluronat seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.4. Genus dan spesies dari rumput laut coklat berbeda akan mempengaruhi perbandingan blok-M, blok-G, dan blok-MG. Rasio perbandingan antara blok M (*mannuronat*) dan blok G (*guluronat*) yang mempengaruhi kekuatan gel larutan pernah dilaporkan sebelumnya dari rumput laut dengan marga *Sargassum* yaitu sebesar 0,8 dengan komposisi M sebesar 44%, G sebesar 55%, MM sebesar 27%, MG+GM sebesar 31%, dan GG sebesar 42%. Alginat yang mengandung blok G yang tinggi akan lebih kaku dan mempunyai porositas yang lebih besar jika dibandingkan dengan alginat yang mengandung blok M lebih banyak. Sehingga alginat dengan blok G yang tinggi akan memiliki sifat gel yang lebih kuat (Situngkir, 2008).



**Gambar 2.4** Struktur Polimannuronat, Poliguluronat, dan Kopolimer Polumannuronat-poliguluronat berselang (Yolanda, 2017)

Seperti yang telah dikatakan Yunizal di dalam Yolanda(2014) alginat memiliki sifat non-alergenik, non-toksik, dapat terurai menjadi gula sederhana, dan dapat diabsorpsi bila diaplikasikan di dalam tubuh manusia. Alginat mempunyai tiga sifat utama yaitu memiliki kemampuan untuk membentuk gel, larut dalam air serta meningkatkan viskositas larutan, dan membentuk film dan serat. Karena adanya ion kation khususnya kalsium pada alginat, maka alginat memiliki fungsi utama sebagai *gelling agent*.

Natrium alginat merupakan garam dari asam alginat yang larut air. Selain itu, kalium alginat dan ammonium alginat juga merupakan garam dari asam alginat lainnya sudah diproduksi secara komersil. Isopropanol, aseton pada konsentrasi maksimum 20%, dan gliserol 70% dapat melarutkan 1% natrium alginat, hal ini terjadi karena natrium alginat mudah larut di dalam larutan yang mengandung hidroksida. Sedangkan pada alkohol dengan konsentrasi lebih dari 30% akan mengendapkan natrium alginat. Larutan, peningkatan viskositas, pembentukan gel, dan pengendapan dipengaruhi oleh kation, pelarut, dan polimer lain. Untuk menambah potensial *bone graft* dalam proliferasi sel pada perbaikan tulang maka perlu adanya bahan tambahan yaitu *zinc*.

## **2.6 Zinc**

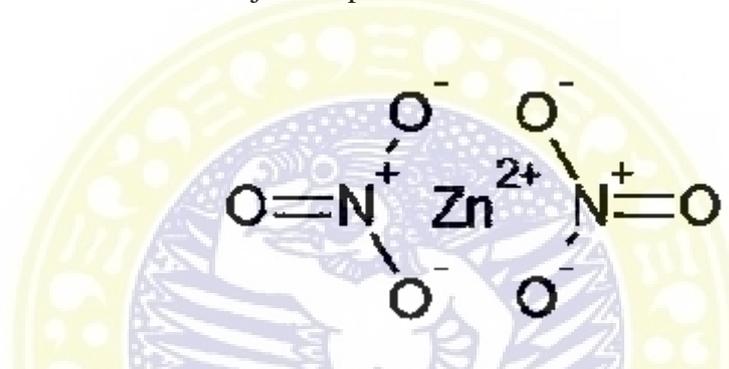
*Zinc* merupakan salah satu mineral di dalam tubuh yang paling penting dan esensial. *Zinc* memiliki banyak fungsi yaitu mensintesis 100 enzim, membangun sistem kekebalan tubuh, membantu mempertahankan indera penciuman dan rasa, membentuk struktur tulang, dan metabolisme. *Zinc*

merupakan mineral dengan jumlah yang cukup besar di dalam tulang yaitu sekitar 160-300 ppm. Di dalam tulang, *zinc* berfungsi sebagai terjadinya diferensiasi sel, pertumbuhan, dan metabolisme protein, karbohidrat dan lipid. Selain itu, *zinc* juga berperan dalam mempengaruhi struktur hormon, transkripsi genetik, dan berperan dalam sintesis dan degradasi asam nukleat, karbohidrat, lipid, dan protein (Mulyaningsih, 2009).

Defisiensi *zinc* di dalam tubuh dapat menyebabkan turunnya metabolisme tulang, mengurangi pertumbuhan, berat badan, perkembangan, dan kesehatan jaringan tulang. Studi sebelumnya telah menunjukkan bahwa *zinc* berperan dalam merangsang pertumbuhan tulang dan mineralisasi secara *in vivo* dan *in vitro*, selain itu *zinc* juga dapat mengurangi resorpsi tulang karena *zinc* dapat menghambat aktivitas osteoklas dari sumsum tulang, merangsang apoptosis osteoklas dewasa, dan merangsang pembentukan kolagen (Shepherd, 2014). *Zinc* juga dapat merangsang proliferasi dan diferensiasi sel serta sintesis protein untuk pertumbuhan tulang seperti osteokalsin, IGF-1, TGR-f, dan aminoasil-tRNA (Cuozzo, 2014). Penambahan *zinc* nitrat sebagai biokomposit dapat mempercepat proliferasi sel dan menghambat kerusakan tulang, sehingga proses perbaikan tulang akan menjadi lebih cepat serta dapat membantu pembentukan struktur tulang.

Pada penelitian ini digunakan *zinc* nitrat yang memiliki formula kimia  $Zn(NO_3)_2$  dengan titik leleh 110°C, titik didih 125 °C , dan kelarutan di dalam air 327 gram/100mL. Selain *zinc* yang memiliki peran yang baik dalam perbaikan tulang, nitrat juga memainkan peran dalam proses *remodelling*

tulang yang memiliki fungsi hampir sama dengan *zinc* yaitu menghambat aktivitas osetoklas, sebagai molekul yang memberi sinyal pada sel osteoblas dan osteosit, mencegah pengeroposan tulang terkait dengan defisiensi estrogen dan distribusi glukokortikoid (Jamal *et al*, 2009). Fungsi dari nitrat lainnya adalah dapat mempengaruhi perkembangan osteoporosis pasca *menopause* dan meningkatkan densitas mineral tulang (Hamilton, 2013). Struktur *zinc* nitrat ditunjukkan pada Gambar 2.5.

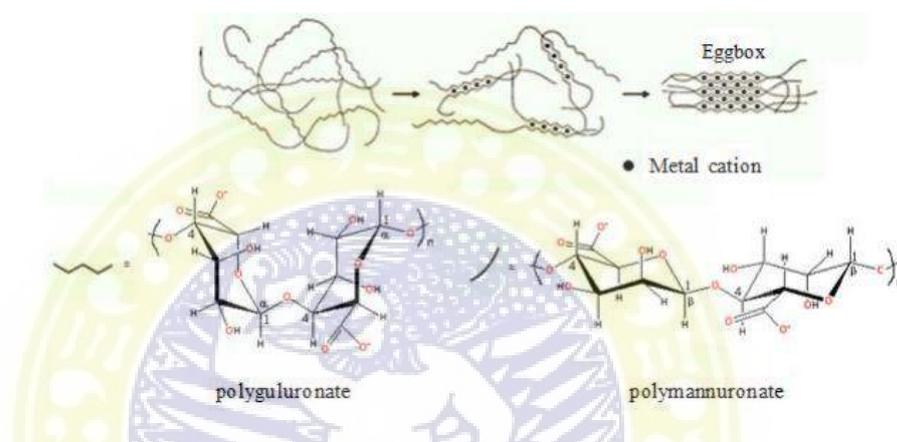


Gambar 2.5 Struktur *Zinc* Nitrat (Nejdl, 2013)

### 2.7 Mekanisme Interaksi HA-Alginat-*Zinc*

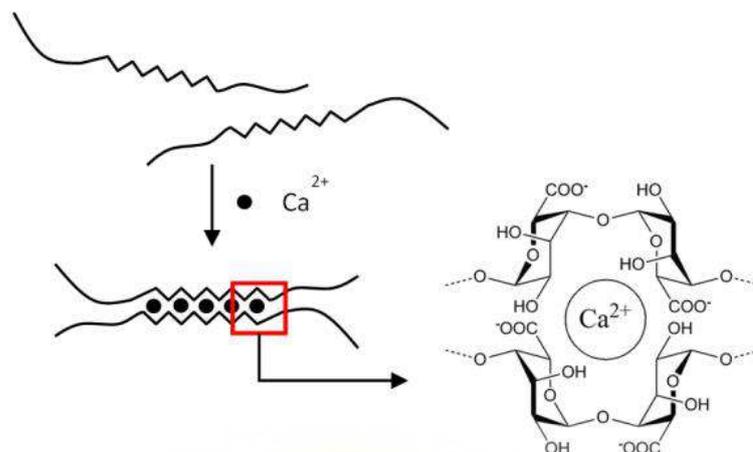
Pada pencampuran ketiga bahan yaitu hidroksiapatit, alginat, dan *zinc* akan terjadi ikatan antara ketiganya, karena pada penelitian sebelumnya telah diuji dengan menggunakan SEM bahwa biomaterial yang berbentuk *sphere* yang dibuat pada penelitian sebelumnya menghasilkan ukuran *sphere* yang kecil bila HA dicampurkan dengan *zinc* nitrat. Hal ini terjadi karena radius ion *zinc* yaitu sebesar 74 pm sehingga *zinc* dapat menyesuaikan ukuran *bone graft* yang akan dibuat dan cocok bila digunakan sebagai *bone graft* yang mengisi volume tulang yang kecil. *Sphere* yang mengandung larutan *zinc* nitrat memiliki struktur “*egg box*” yang kompak, sehingga akan meningkatkan kekuatan mekanik dari *bone graft*. Selain itu, *zinc* memiliki

afinitas untuk menarik asam guluronik dan manuronat pada alginat seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.6, sedangkan kalsium yang terdapat pada HA hanya memiliki afinitas terhadap guluronik saja yang akan membentuk gel untuk menjebak bahan lain di dalam gel tersebut untuk mengembangkan jenis biomaterial terbaru (Cuozzo *et al*, 2017).



**Gambar 2.6** Ikatan Antara Ion Zinc dan Alginat (Tavassoli, 2015)

$\text{Ca}^{2+}$  pada HA berfungsi sebagai *cross linker* alginat yang saling terhubung satu sama lain membentuk pola "egg box" (Das *et al*, 2017). Ikatan ini terjadi melalui interaksi ionik dan membuat lapisan yang saling berhubungan di sekitar *egg box* (Carrodegua, 2011), seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.7. Sedangkan penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa antara alginat dan ion divalen seperti *zinc* akan terjadi proses *cross link* (Goh *et al*, 2008).



**Gambar 2.7** Ikatan Antara  $\text{Ca}^{2+}$  dan Alginat (Paques *et al*, 2014)

HA memiliki kemampuan untuk menerima ion pengganti di dalam kisinya seperti ion divalen berupa *zinc*, hal ini dilakukan untuk meningkatkan sifat sitokompatibilitas dari HA. Ion  $\text{Zn}^{2+}$  akan menggantikan ion  $\text{Ca}^{2+}$  pada HA. HA yang direaksikan dengan *zinc* memiliki tingkat kelarutan yang lebih cepat. Dengan ditambahkan *zinc* maka sifat bioaktif dari HA akan meningkat (Norhidayu *et al*, 2008).

## 2.8 Karakterisasi Sampel

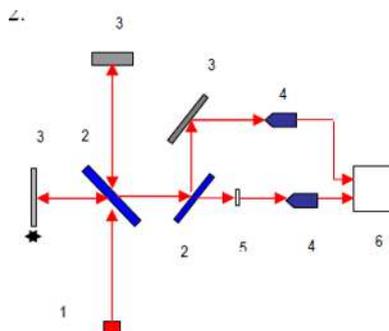
Pengujian dan analisis data hasil uji dilakukan untuk mengetahui sifat dan karakteristik dari *bone graft* yang akan diaplikasikan ke dalam tubuh manusia. Beberapa pengujian dan analisis data hasil uji yang dibahas pada penelitian ini adalah uji FTIR, uji kuat tekan, uji SEM, dan uji porositas.

### 2.8.1 Uji Spektroskopi (FTIR)

FTIR merupakan salah satu uji yang paling penting dan digunakan untuk menganalisis gugus fungsi suatu sampel. Dengan

menggunakan spektroskopi inframerah yang dilengkapi dengan transformasi Fourier, maka sampel dapat dideteksi dan dianalisis hasil spektrum untuk menentukan adanya gugus fungsi kimia tertentu di dalam sampel organik dan anorganik, mengidentifikasi kandungan sampel yang belum diketahui, dan menentukan jumlah komponen dalam sampel. FTIR merupakan interferometer Michelson yaitu menganalisis frekuensi dalam suatu sinyal gabungan (Anam *et al*, 2007).

Pentransimisian cahaya yang melewati sampel akan menghasilkan spektrum inframerah, kemudian dilakukan pengukuran intensitas cahaya dengan menggunakan detektor dan dibandingkan dengan intensitas tanpa sampel sebagai fungsi dari panjang gelombang yang terdeteksi alat. Setelah spektrum inframerah diplot sebagai intensitas fungsi energi, panjang gelombang ( $\mu\text{m}$ ) atau bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) (Anam *et al*, 2007). Skema alat spektroskopi FTIR ditunjukkan pada Gambar 2.8.



**Gambar 2.8** Skema alat spektroskopi FTIR (1) Sumber

Inframerah (2) *Beam Splitter* (3) Kaca Pemantul (4) Sensor Inframerah  
(5) Sampel (6) Display (Anam *et al*, 2007).

Spektroskopi inframerah bekerja dengan melewati radiasi inframerah ke sampel yang akan dideteksi. Sebagian dari radiasi inframerah ini akan diabsorpsi oleh sampel dan sebagian lagi akan ditransmisikan, yang kemudian akan memunculkan *finger print* molekul pada sampel. Untuk melakukan uji FTIR dibutuhkan serbuk KBr sebagai *background* dari sampel, hal ini dilakukan karena sel pada tempat cuplikan sampel harus terbuat dari bahan (salah satunya adalah KBr) yang dapat ditembus dengan inframerah. FTIR dilengkapi dengan transformasi Fourier untuk mendeteksi dan menganalisa hasil dari spektrum yang muncul. Dengan membandingkan pita absorpsi yang terbentuk pada spektrum inframerah menggunakan tabel korelasi dan spektrum senyawa pembandingnya maka analisis gugus fungsi yang terkandung di dalam sampel dapat dilakukan (Anam *et al*, 2007).

### 2.8.2 Uji Kuat Tekan

Kuat tekan merupakan suatu ketahanan maksimum sampel terhadap tekanan yang diberikan sampai terjadi kerusakan pada sampel karena tidak mampu lagi menahan beban yang diberikan. Tegangan yang diberikan pada sampel akan mempengaruhi besarnya nilai kuat tekan. Tegangan yang diberikan merupakan suatu perubahan gaya terhadap luas penampang yang dikenai gaya tersebut.

Untuk melakukan uji kuat tekan, pertama-tama sampel harus dibentuk menjadi silinder yang setiap ujungnya dihaluskan dengan menggunakan amplas. Kemudian pada bagian sisi sampel diukur dengan menggunakan jangka sorong untuk mendapatkan besarnya diameter dari silinder. Setelah dilakukan pengukuran, sampel diletakkan pada tempat sampel yang berada di bawah penekan. Saat sampel sudah berada pada posisi yang benar, maka mesin dinyalakan, kemudian atur kecepatan dan gaya penekan yang akan diberikan pada sampel. Setelah pengaturan selesai, *load cell* akan turun dengan kecepatan yang telah diatur sebelumnya, setelah menyentuh sampel sampai hancur maka penekan harus segera diberhentikan dan dicatat besarnya gaya yang terjadi pada saat pengujian. Setelah mendapatkan besarnya gaya, kuat tekan dapat dihitung dengan menggunakan Persamaan 2.1.

$$\sigma = \frac{F}{A} (MPa) \quad (2.1)$$

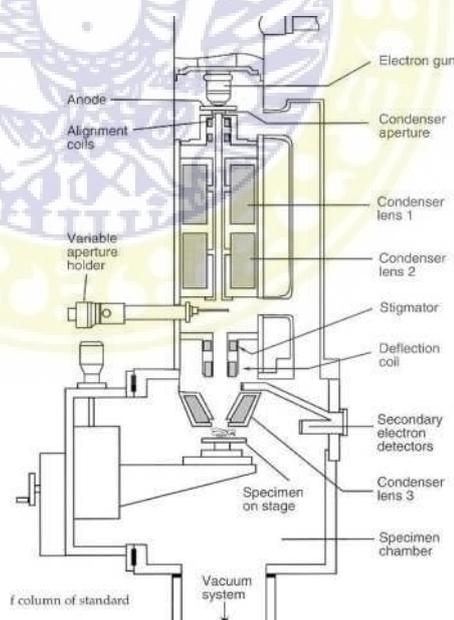
dengan  $\sigma$  adalah kuat tekan (MPa), F adalah gaya atau beban yang diberikan (N), dan A adalah luas penampang yang dikenai oleh beban (mm) (Syarifudin, 2011).

### 2.8.3 Uji Morfologi (SEM)

Morfologi struktur permukaan untuk melihat ukuran pori pada sampel dianalisa dengan menggunakan mikroskop elektron (SEM). Pengujian ini dilakukan dengan cara melapisi sampel dengan emas sebelumnya. Kemudian setelah sampel dilapisi emas, diuji dengan menggunakan JVM-410 LV SEM. *Scanning Electron Microscopy* (SEM) digunakan untuk mengetahui struktur mikro pada sampel, terutama pada bagian permukaan. Dengan menggunakan SEM, struktur permukaan hidroksiapatit dan ukuran pori hidroksiapatit yang terkandung di dalam sampel dapat dilihat dengan menggunakan perbesaran tertentu. Dengan analisa morfologi, dapat diketahui apakah ukuran pori pada sampel telah memenuhi ukuran pori yang telah ditentukan agar dapat diaplikasikan sebagai *bone graft* di dalam tubuh.

Prinsip kerja pada SEM adalah dengan menembakkan berkas elektron berenergi tinggi ke permukaan sampel yang akan diuji. Berkas tersebut akan dipantulkan oleh permukaan benda atau menghasilkan elektron sekunder ke satu arah dengan berkas yang dipantulkan memiliki intensitas tertinggi dan ke berbagai arah dengan intensitas yang sedang atau rendah. Elektron yang telah dipantulkan

tersebut akan dideteksi oleh detektor di dalam SEM untuk menentukan lokasi berkas yang dipantulkan dengan intensitas tertinggi. Arah pantulan elektron akan menunjukkan informasi profil permukaan sampel seperti bagaimana bentuknya dan kemana arah kemiringan struktur tersebut. Agar SEM dapat menghasilkan citra permukaan sampel yang tajam, maka permukaan sampel harus dapat memantulkan elektron dan dapat melepaskan elektron sekunder ketika ditembakkan dengan berkas elektron. Dengan memenuhi syarat tersebut maka hasil dari pengujian akan berupa sebuah gambar yang jelas dan dapat dianalisa dengan mudah (Yunita, 2014). Bagian-bagian pada SEM ditunjukkan pada Gambar 2.9.



**Gambar 2.9** Bagian-bagian SEM (Syafrudin, 2011)

Elektron yang muncul pada saat pengujian akan berperilaku sebagai gelombang yang kemudian akan mempengaruhi besarnya

energi. Untuk memunculkan citra objek yang lebih kecil dengan resolusi tinggi, panjang gelombang yang tampak harus lebih pendek dari panjang gelombang cahaya tampak. Dengan menggunakan spektrum refleksi dan absorpsi elektron, hasil dapat dianalisis secara kuantitatif. SEM menggunakan serangkaian alat untuk menghasilkan berkas elektron yang memiliki filamen dengan tegangan untuk mempercepat sebesar 2-30kV. Berkas yang dihasilkan akan melewati sederet lensa elektromagnetik untuk menghasilkan citra dari sumber elektron pada sampel sebesar 10 nm atau kurang (Syafrudin, 2011).

#### 2.8.4 Uji Porositas

Untuk mengetahui persentase pori yang ada pada sampel maka dilakukan uji porositas. Untuk melakukan uji porositas, sampel ditimbang terlebih dahulu untuk mengetahui massa kering atau massa sampel yang belum mengandung ethanol ( $W_d$ ), setelah itu sampel direndam di dalam ethanol 96% selama 48 jam. Sampel yang telah direndam kemudian ditimbang kembali untuk mengetahui massa basahnya atau massa sampel yang sudah mengandung ethanol ( $W_1$ ). Setelah itu keringkan sampel dengan menggunakan kertas filter dan timbang kembali untuk mengetahui massa sampel yang telah dikeringkan ( $W_w$ ) (Wattanutchariya, 2014). Untuk menghitung porositas sampel digunakan Persamaan 2.2.

$$\text{Porositas (\%)} = \frac{W_w - W_d}{W_w - W_1} \times 100 \quad (2.2)$$

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian dibagi menjadi tempat pada saat sintesis bahan dan pada saat pengujian, sedangkan waktu penelitian berdasarkan lamanya sintesis dan karakterisasi sampel.

##### 3.1.1 Tempat Penelitian

Tempat yang dipakai dalam penelitian ini adalah Laboratorium Fisika Material Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga untuk sintesis *bone graft* hidroksiapatit-alginat-zinc dan laboratorium farmakologi Universitas Widya Mandala untuk proses *freeze drying*.

Karakterisasi *bone graft* hidroksiapatit-alginat-zinc melalui uji *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) yang dilakukan di Laboratorium Kimia Terpadu Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, uji *compressive strength* dilakukan di Unit Layanan Pengujian (ULP) Laboratorium Dasar Bersama Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, uji morfologi *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dilakukan di LPPM Institut Teknologi Sepuluh November, dan uji porositas dilakukan di Laboratorium Fisika Material Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya.

### 3.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 5 bulan, pada bulan Februari sampai dengan Juni 2018.

## 3.2 Bahan dan Alat Penelitian

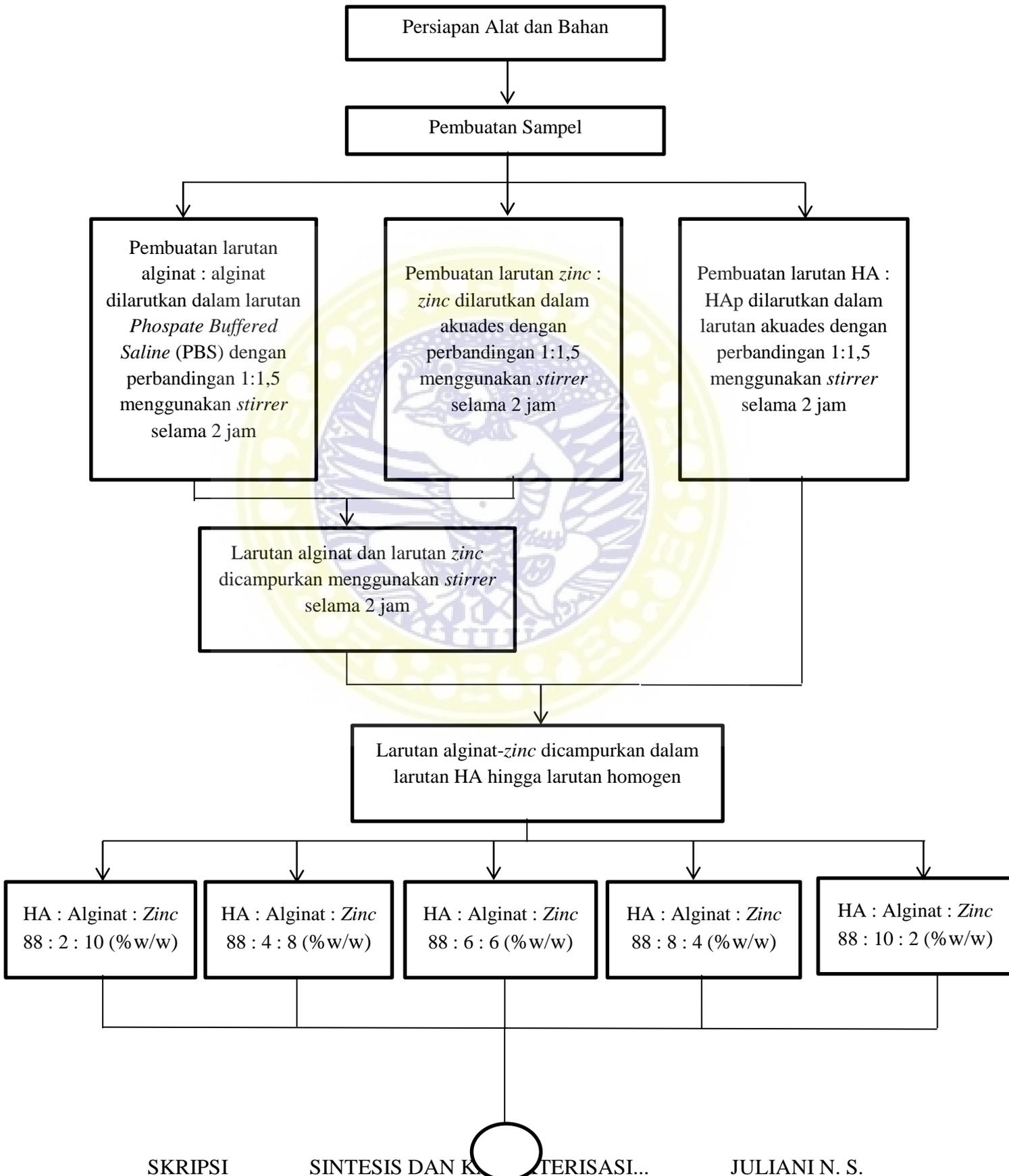
### 3.2.1 Bahan Penelitian

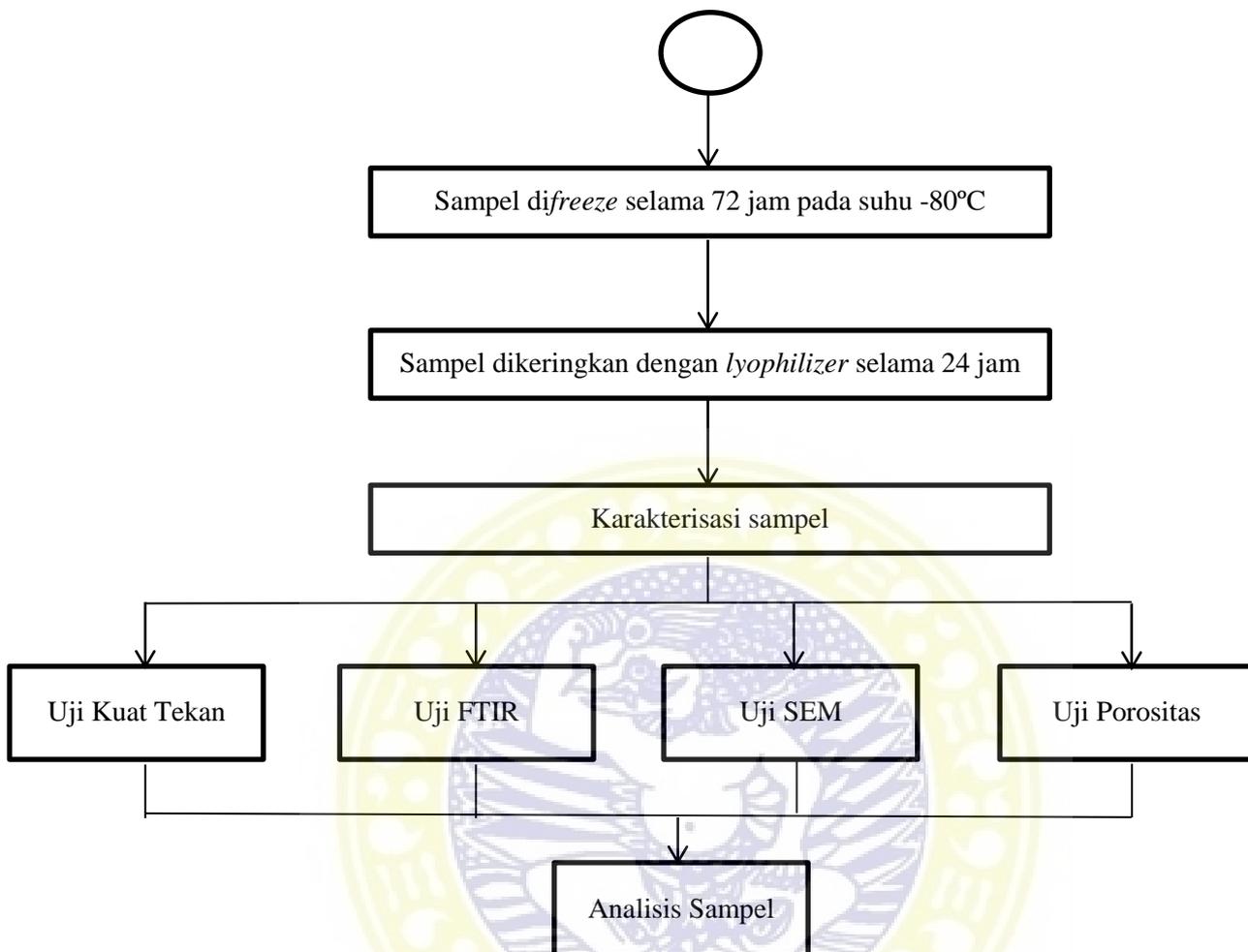
Bahan yang digunakan untuk pembuatan *bone graft* hidroksiapatit-alginat-*zinc* dalam penelitian ini yaitu hidroksiapatit, sodium alginat, *zinc* nitrat 98,5%, *Phosphate Buffer Saline*(PBS), akuades, dan kertas filter.

### 3.2.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi dua jenis, yaitu peralatan yang digunakan untuk pembuatan sampel antara lain timbangan digital, gelas *beaker*, gelas ukur, spatula, pipet, cawan petri, *magnetic stirrer*, dan selang. Peralatan yang digunakan untuk karakterisasi sampel antara lain seperangkat alat uji *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR – *Spectroscopy*) Shimadzu Prestige 2 di Laboratorium Kimia Terpadu Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, seperangkat alat uji mekanik (Autograph) di Unit Pelayanan Pengujian (ULP) Laboratorium Dasar Bersama Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, dan seperangkat *Scanning Electron Microscopy* (SEM) di LPPM Institut Teknologi Sepuluh November.

### 3.3 Diagram Penelitian





**Gambar 3.1** Diagram Prosedur Penelitian

### 3.4 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini meliputi beberapa tahap antara lain, pembuatan hidroksiapatit dengan menyiapkan bahan hidroksiapatit, alginat, dan *zinc*, dan karakterisasi sampel *bone graft*, variasi komposisi dapat dilihat pada Tabel 3.1.

#### 3.4.1 Pembuatan Sampel Biokomposit Hidroksiapatit-Alginat-Zinc

Sampel dibuat dengan berbagai variasi komposisi antara hidroksiapatit-alginat-*zinc*. Alginat dilarutkan dalam PBS dengan

perbandingan 1:1,5, aduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 2 jam hingga larutan homogen. Setelah itu, *zinc* nitrat dilarutkan dalam akuades dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 2 jam dengan menggunakan suhu 45°C hingga larutan homogen. Kemudian, hidroksiapatit dilarutkan dalam akuades dengan perbandingan 1:1,5. Larutan alginat dan larutan *zinc* nitrat dilarutkan dicampurkan dan diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 2 jam hingga larutan menjadi homogen. Hasil dari percampuran kedua larutan tersebut dicampurkan dengan larutan hidroksiapatit dan diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 2 jam. Kemudian setelah itu, ketiga larutan yang sudah homogen difreeze selama 72 jam pada suhu -80°C dan dikeringkan dengan *lyophilizer* selama 24 jam.

**Tabel 3.1** Data Variasi Komposisi Sampel

Sampel	Komposisi Sampel			Berat Total (gram)
	HAp(gram)	Alginat(gram)	Zinc(gram)	
A	8,8	0,2	1	10
B	8,8	0,4	0,8	10
C	8,8	0,6	0,6	10
D	8,8	0,8	0,4	10
E	8,8	1	0,2	10

### 3.4.2 Karakterisasi Sampel

*Bone graft* hidroksiapatit-alginat-zinc yang telah terbentuk dikarakterisasi untuk mengetahui sifat-sifat dari *bone graft*. Karakterisasi yang dilakukan ada uji spektroskopi *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR), uji *compressive strength*, dan uji morfologi (SEM). Sampel yang telah divariasikan akan dikarakterisasi terlebih dahulu menggunakan uji FTIR, dan uji kuat tekan. Setelah dilakukan uji dan mendapatkan hasil sifat dari masing-masing variasi sampel, maka akan diambil 2 sampel dengan nilai karakteristik terbaik dan karakteristik terendah sebagai pembandingan yang kemudian akan diuji dengan SEM untuk melihat perbedaan morfologi permukaannya.

#### 3.4.2.1 Pengujian Spektroskopi (FTIR)

Uji FTIR dilakukan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat di dalam sampel menggunakan alat *Fourier Transform Infra Red Spectroscopy* (FTIR-Spectroscopy). Sampel sebanyak 1-2mg diambil, kemudian dicampurkan dengan bubuk KBr sekitar 200mg dan diaduk hingga homogen. Campuran yang telah jadi ditempatkan di dalam sebuah cetakan dan diberi tekanan menggunakan alat mekanik. Tekanan dipertahankan beberapa menit untuk membentuk pelet KBr, kemudian sampel ditempatkan pada tempat sampel pengujian pada alat FTIR.

### 3.4.2.2 Pengujian Kuat Tekan

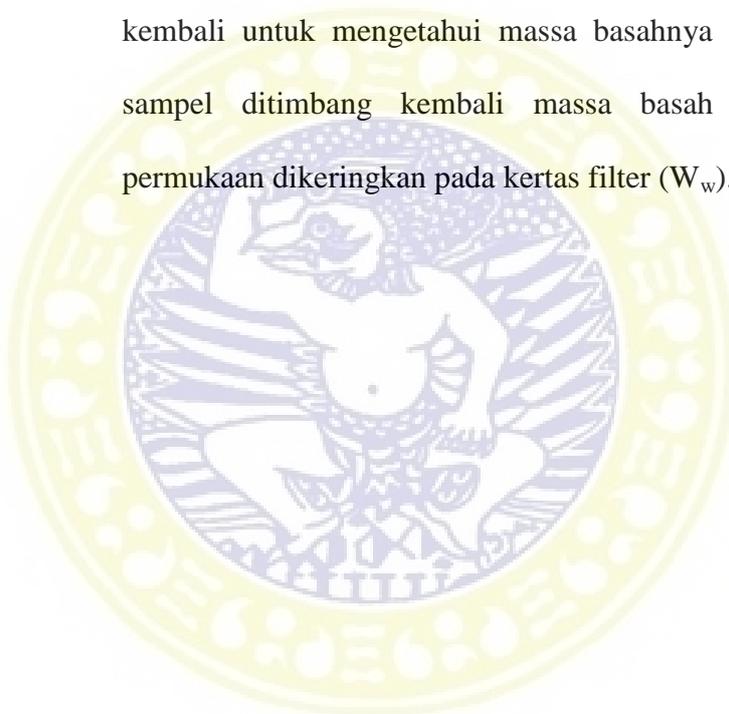
Uji kuat tekan (*Compressive strength*) dilakukan untuk mengetahui kuat tekan yang mampu diberikan pada sampel *bone graft*. Sampel diukur sisinya menggunakan jangka sorong untuk mengetahui diameter sampel, setelah itu sampel diletakkan di spesimen alat uji tekan untuk dilakukan penekanan oleh alat sampai sampel hancur. Dari uji yang dilakukan dapat dilihat hasilnya berupa besarnya beban (F) yang digunakan untuk menekan sampel hingga hancur.

### 3.4.2.3 Pengujian Morfologi (SEM)

Uji SEM dilakukan untuk mengetahui morfologi dari permukaan sampel *bone graft*, dari morfologi permukaan tersebut dapat diketahui besar dan sebaran pori pada sampel *bone graft*. Sampel dipreparasi terlebih dahulu kemudian direkatkan dengan karbon pada tempat yang terbuat dari logam yang dilapisi dengan palladium agar sampel dapat dimasukkan ke dalam ruang spesimen dan diberikan sinar dengan pancaran elektron sebesar 20kV. Detektor sintilator yang diperkuat dengan rangkaian listrik akan mendeteksi elektron yang dipantulkan, sehingga akan didapatkan hasil berupa gambar layar *Chatode Ray Tube* (CRT). Bagian dari objek dapat dipilih dan mengatur perbesaran yang akan dipakai, kemudian akan dilakukan pemotretan untuk memperoleh gambar.

#### 3.4.2.4 Pengujian Porositas

Uji porositas dilakukan untuk mengetahui persentase pori yang terbentuk pada sampel. Sebelum melakukan pengujian sampel ditimbang terlebih dahulu untuk mengetahui massa kering ( $W_d$ ), kemudian sampel direndam di dalam ethanol 96% selama 48 jam. Setelah itu sampel ditimbang kembali untuk mengetahui massa basahnya ( $W_i$ ), kemudian sampel ditimbang kembali massa basah setelah cairan permukaan dikeringkan pada kertas filter ( $W_w$ ).



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

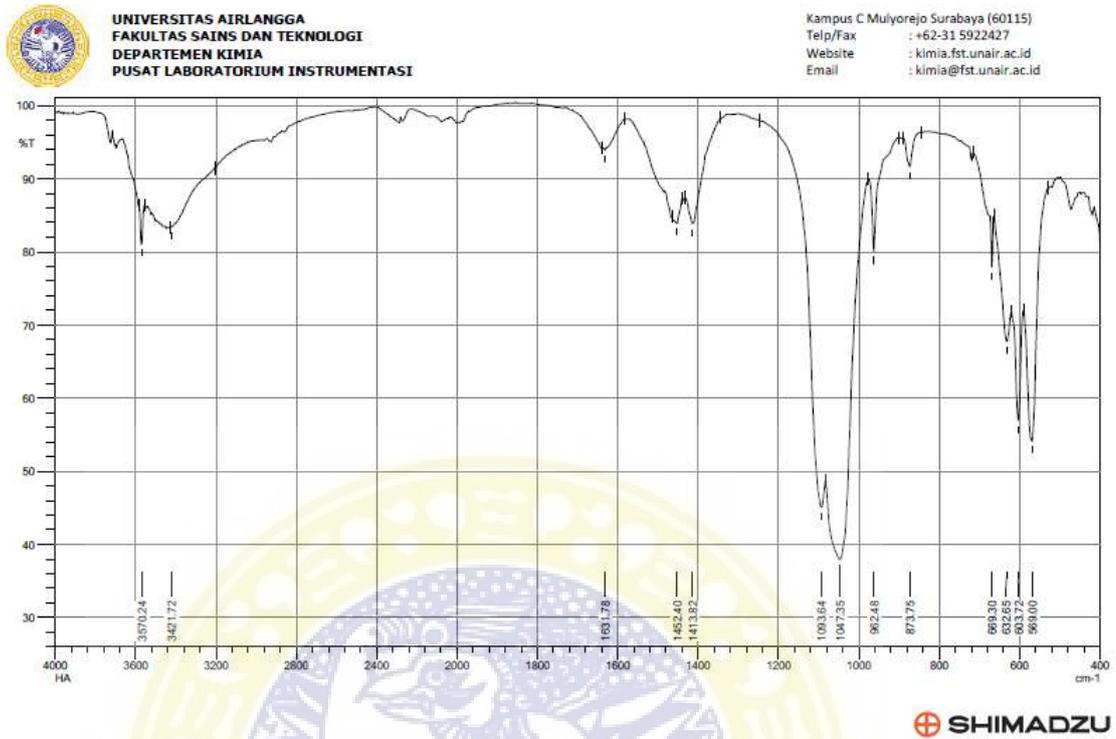
Pada penelitian ini telah dilakukan sintesis *bone graft* hidroksiapatit-alginat-*zinc*. Sintesis *bone graft* dilakukan dengan melarutkan hidroksiapatit menggunakan akuades yang *distirrer* selama 2 jam, *zinc* dilarutkan menggunakan akuades yang *distirrer* selama 2 jam, sedangkan alginat dilarutkan menggunakan *phospate buffered saline* yang *distirrer* selama 2 jam hingga masing-masing larutan homogen. Larutan alginat dan larutan *zinc* dicampurkan dan *distirrer* selama 2 jam hingga larutan homogen. Kemudian hasil dari campuran kedua larutan tersebut dicampurkan dengan larutan hidroksiapatit dan *distirrer* selama 2 jam sampai larutan homogen. Sampel dicetak menggunakan sedotan dengan diameter 0,8 cm dan *freeze* selama 72 jam menggunakan suhu  $-80^{\circ}\text{C}$ , setelah itu *didry* selama 24 jam agar kadar air yang terdapat pada sampel berkurang. Hasil dari sintesis ditunjukkan pada Gambar 4.1. Karakterisasi uji yang dilakukan meliputi uji FTIR untuk mengetahui gugus fungsi sampel, uji porositas untuk mengetahui persentase pori pada sampel, uji kuat tekan untuk mengetahui nilai kuat tekan sampel, dan uji SEM untuk mengetahui morfologi permukaan dan ukuran pori pada sampel.



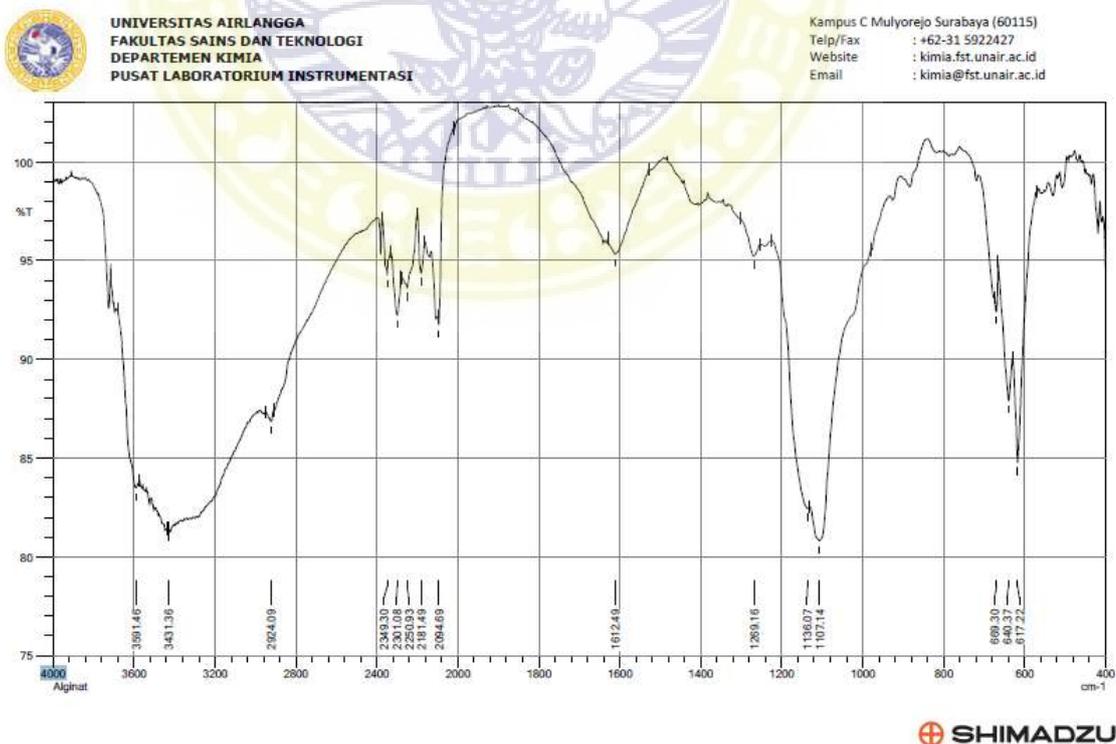
**Gambar 4.1.** Hasil Sintesis *Bone graft* Hidroksiapatit-Alginat-Zinc

#### **4.1 Uji Gugus Fungsi dengan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)**

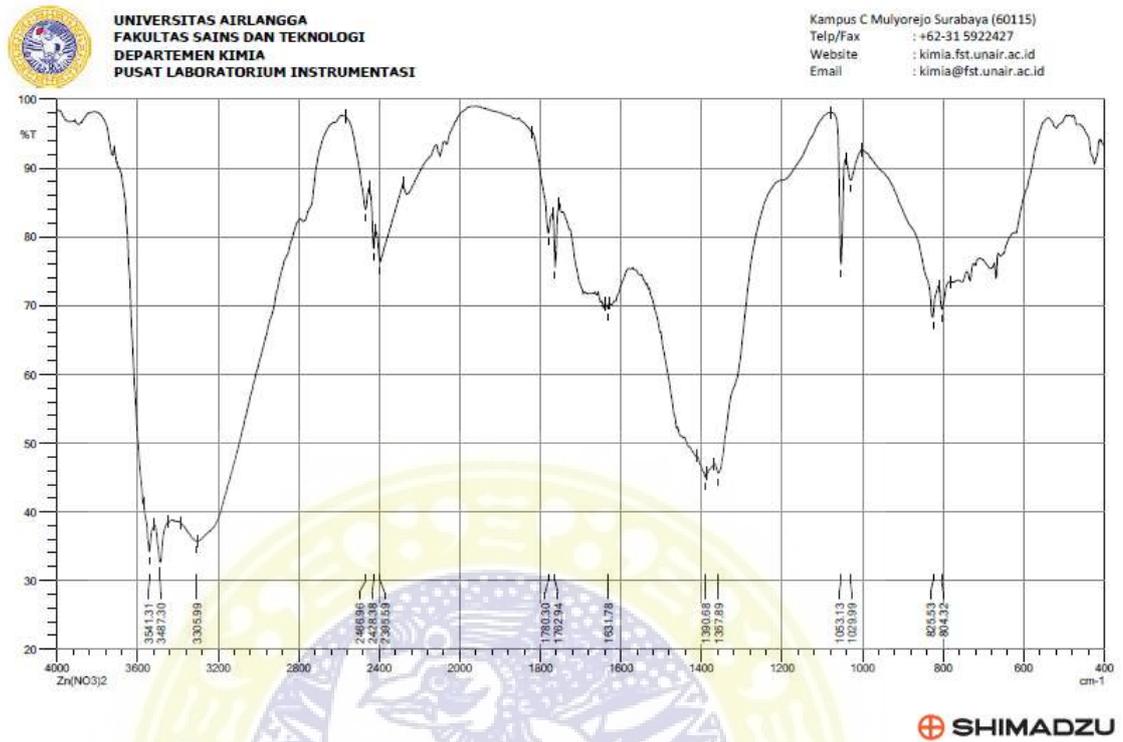
Uji FTIR dilakukan untuk mengetahui gugus fungsi berdasarkan vibrasi ikatan dalam sampel yang diuji. Dengan vibrasi spektroskopi ini akan didapat informasi kimia pada daerah panjang gelombang  $4000-400\text{ cm}^{-1}$ . Uji gugus fungsi dilakukan pada ketiga bahan penyusun *bone graft* dan kelima variasi sampel. Spektrum dari hidroksiapatit, alginat, *zinc*, dan *bone graft* hidroksiapatit-alginat-*zinc* disajikan pada Gambar 4.2 sampai dengan Gambar 4.9.



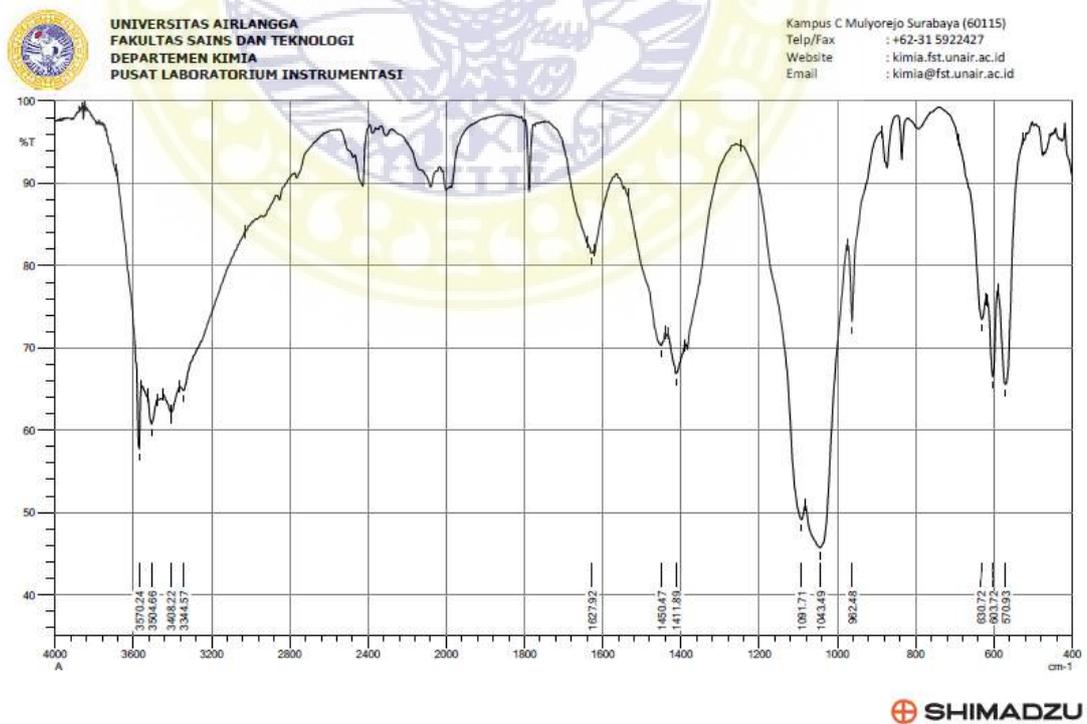
Gambar 4.2 Spektrum FTIR Hidroksiapatit



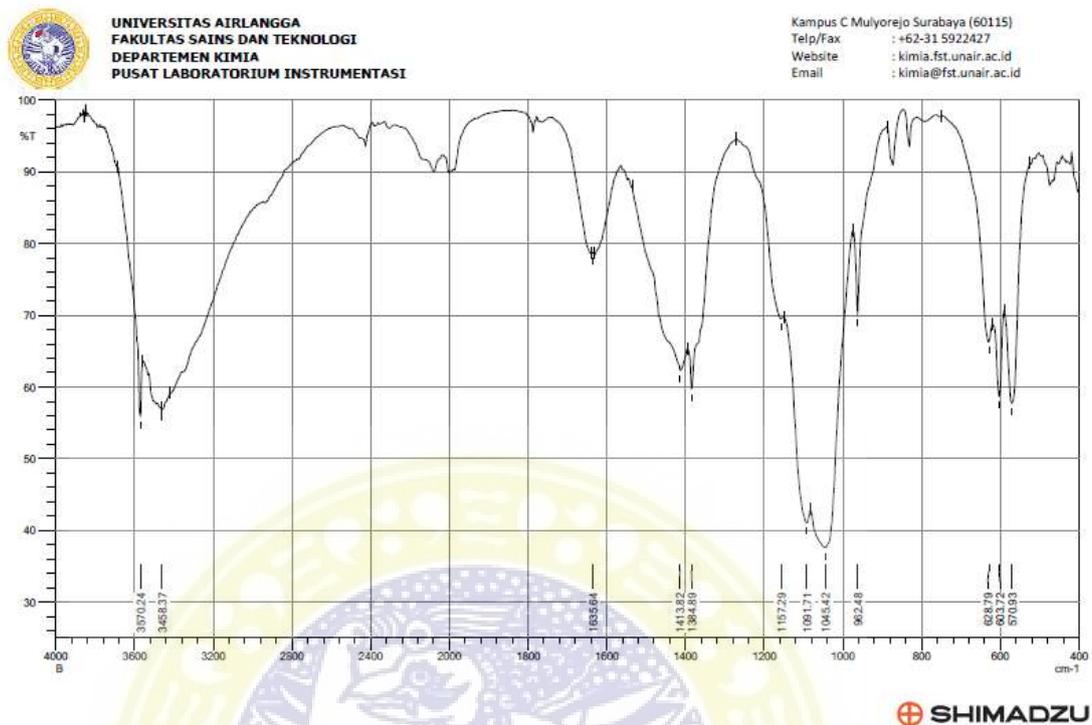
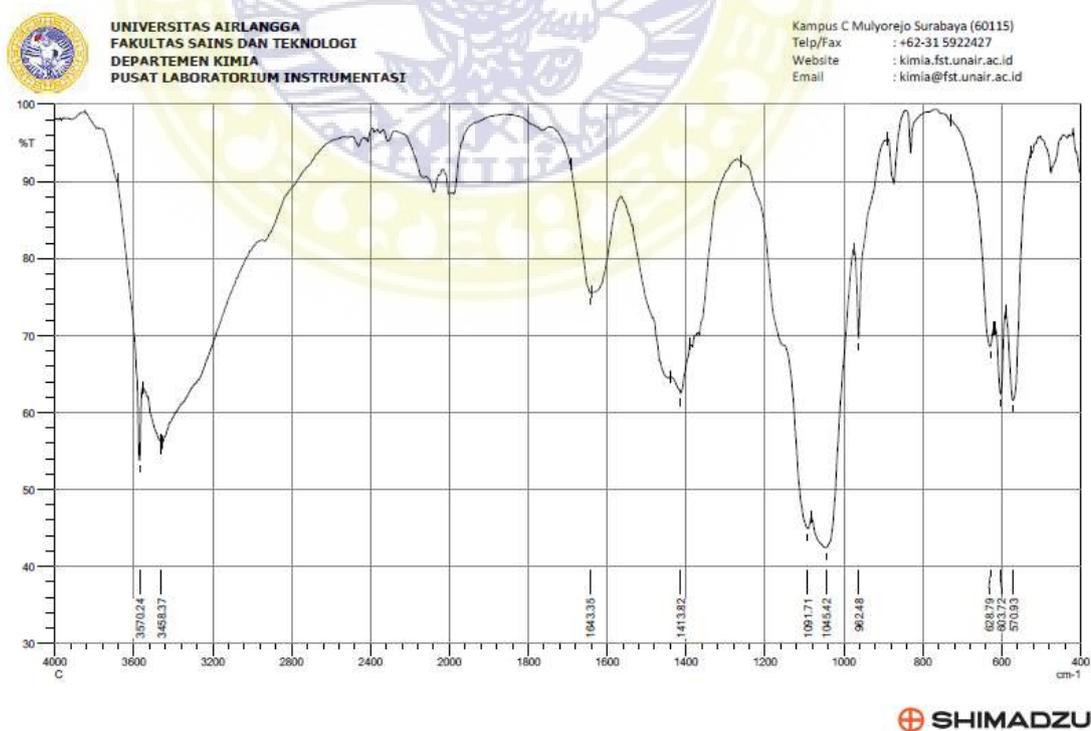
Gambar 4.3 Spektrum FTIR Alginat

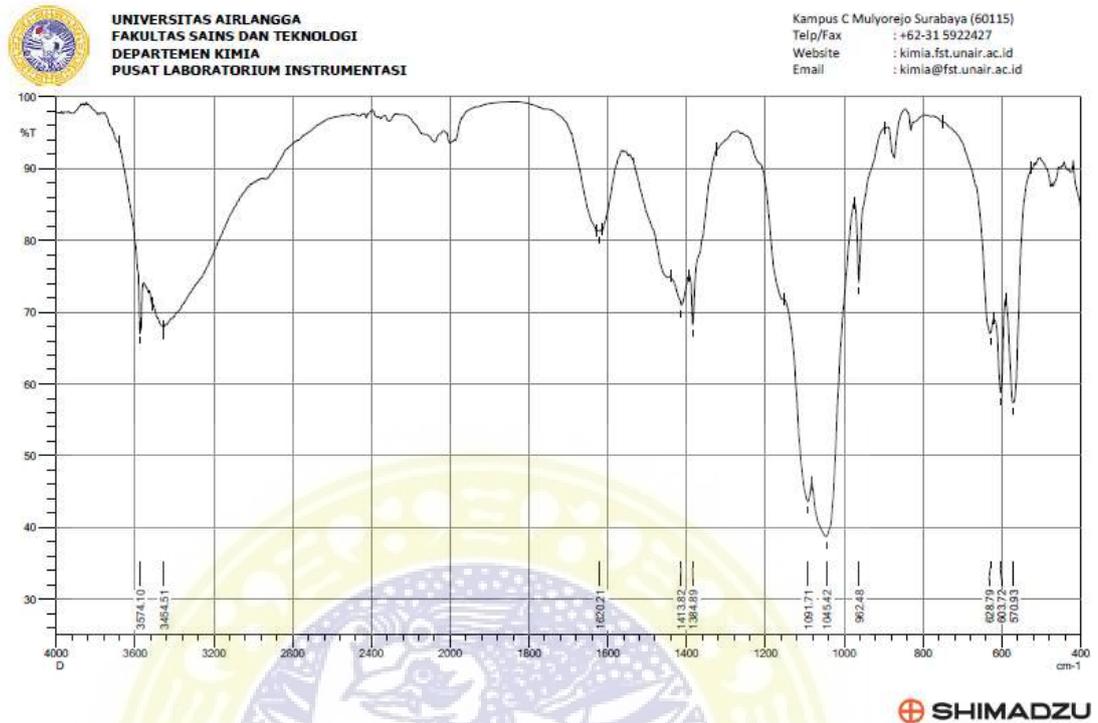
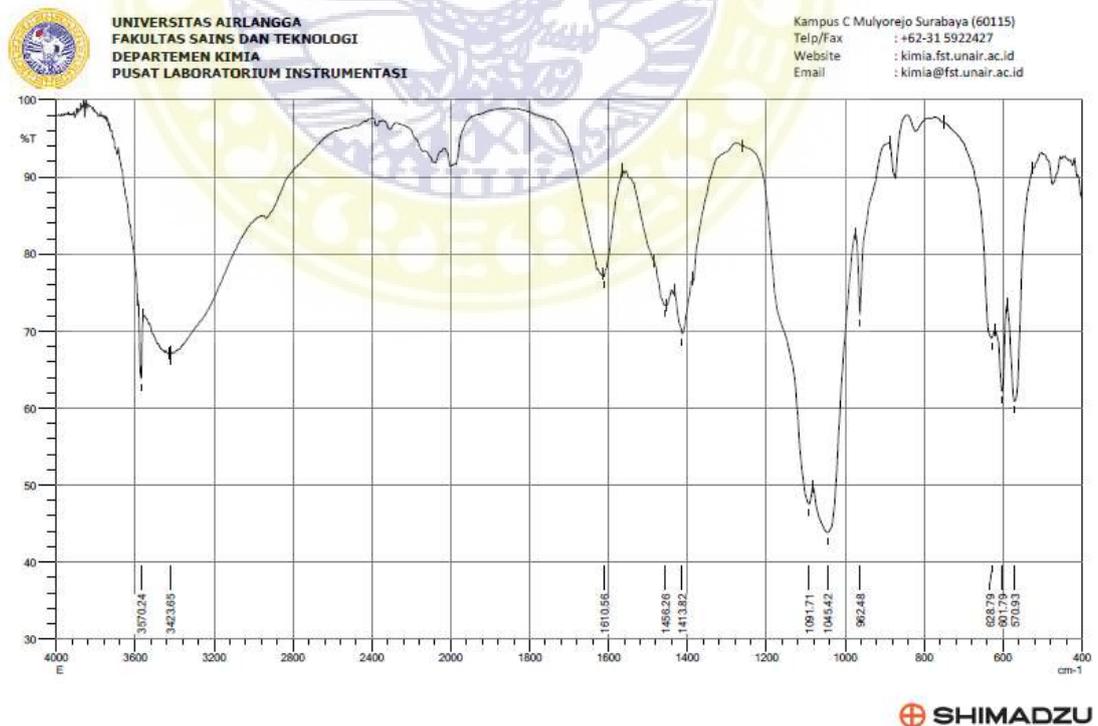


Gambar 4.4 Spektrum FTIR Zinc



Gambar 4.5 Spektrum FTIR bone graft Sampel A

Gambar 4.6 Spektrum FTIR *bone graft* Sampel BGambar 4.7 Spektrum FTIR *bone graft* Sampel C

Gambar 4.8 Spektrum FTIR *bone graft* Sampel DGambar 4.9 Spektrum FTIR *bone graft* Sampel E

**Tabel 4.1** Data Bilangan Gelombang Hasil FTIR

Gugus	Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )							
	HA	Alginat	Zinc	Sampel A	Sampel B	Sampel C	Sampel D	Sampel E
O-H stretching	3570,24 dan 3421,72	3591,46 dan 3431,36	-	3570,24 ; 3504,66 ; dan 3344,57	3570,24	3570,24	3574,1	-
N-H stretching	-	-	-	3408,22	3458,37	3458,37	3454,51	3423,65
C-H	-	2924,09	-	-	-	-	-	-
COO <sup>-</sup> asimetri	-	1612,49	-	1627,92	1635,64	1643,35	1620,21	1610,56
COO <sup>-</sup> simetri	-	-	-	1450,47 dan 1411,89	1413,82	1413,82	1413,82	1456,26 dan 1413,82
O-N-O simetri stretching	-	-	1390,68 dan 1357,89	-	1384,89	-	1384,89	-
C-O simetri stretching	1452,4	1269,16 ; 1136,07 dan 1107,14	-	-	-	-	-	-
PO <sub>4</sub> asimetri stretching	1093,64 dan 1047,35	-	-	1091,71 dan 1043,49	1157,29; 1091,71 dan 1045,42	1091,71 dan 1045,42	1091,71 dan 1045,42	1091,71 dan 1045,42
PO <sub>4</sub> simetri stretching	962,48	-	-	962,48	962,48	962,48	962,48	962,48
CO <sub>3</sub>	873,75 dan 669,3	-	-	-	-	-	-	-
C-Cl stretching	-	-	-	630,72	628,79	628,79	628,79	628,79
PO <sub>4</sub> asimetri bending	632,65 dan 603,72	-	-	603,72	603,72	603,72	603,72	601,79
PO <sub>4</sub> simetri bending	569	-	-	570,93	570,93	570,93	570,93	570,93

Untuk menganalisa gugus fungsional yang terdapat pada suatu sampel digunakan uji FTIR. Dari hasil uji FTIR pada kelima sampel *bone graft* hidroksiapatit-alginat-*zinc* seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.1 dihasilkan spektrum FTIR yang memiliki gugus O-H pada bilangan gelombang 3591,46  $\text{cm}^{-1}$  sampai 3421,72  $\text{cm}^{-1}$  pada bahan HA dan alginat, kemudian terdapat bilangan gelombang 3574,1  $\text{cm}^{-1}$  sampai 3344,57  $\text{cm}^{-1}$  pada semua variasi sampel yang merupakan gugus hidroksil yang berada pada rentang 3650-3100  $\text{cm}^{-1}$ . Puncak ini merupakan puncak yang paling luas karena adanya peregangan gugus hidroksil dan molekul air yang teradsorpsi. Kemudian pada bilangan gelombang 3458,37  $\text{cm}^{-1}$  sampai 3408,22  $\text{cm}^{-1}$  terdapat gugus N-H *stretching* yang merupakan hasil dari penggabungan hidroksiapatit dan *zinc* nitrat yang membentuk kompleks *zinc*-ammonia  $\text{Zn}(\text{NH}_3)_4^{2+}$  pada *range* panjang gelombang 3500-3400  $\text{cm}^{-1}$  seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Shepherd D. dan Serena M. (2013). Pada bilangan gelombang 2924,09  $\text{cm}^{-1}$  terdapat gugus C-H milik alginat. Sedangkan pada rentang 1670-1400  $\text{cm}^{-1}$  terdapat gugus  $\text{COO}^-$  asimetri pada alginat dan semua variasi sampel dari bilangan gelombang 1643,35  $\text{cm}^{-1}$  sampai 1610,56  $\text{cm}^{-1}$  dan gugus  $\text{COO}^-$  simetri *stretching* yaitu pada bilangan gelombang sampai 1456,26  $\text{cm}^{-1}$  sampai 1411,89  $\text{cm}^{-1}$  pada semua variasi sampel.

Pada bilangan gelombang 1390,68  $\text{cm}^{-1}$  sampai 1357,89  $\text{cm}^{-1}$  terdapat gugus O-N-O yang merupakan gugus nitro dari *zinc* nitrat pada variasi sampel B dan D. Kemudian pada bilangan gelombang 1452,4  $\text{cm}^{-1}$  sampai 1107,14  $\text{cm}^{-1}$  terdapat gugus C-O simetri *stretching* dari hidroksiapatit dan alginat. Fase anorganik dari hidroksiapatit dapat terlihat dari adanya gugus fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) yang merupakan

impuritas pada tulang, gugus fosfat asimetri *stretching* terlihat pada bilangan gelombang  $1157,29\text{ cm}^{-1}$  sampai  $1045,42\text{ cm}^{-1}$  dan gugus fosfat simetri *stretching* terlihat pada bilangan gelombang  $962,48\text{ cm}^{-1}$  pada HA dan semua variasi sampel. Pada bilangan gelombang  $873,75$  dan  $669,3$  terdapat gugus  $\text{CO}_3$  milik HA. Kemudian, terdapat gugus C-Cl dari *phospate buffered saline* (PBS) pada bilangan gelombang  $630,72\text{ cm}^{-1}$  sampai  $628,79\text{ cm}^{-1}$ . Selain itu, gugus fosfat asimetri *bending* terlihat pada bilangan gelombang  $632,65\text{ cm}^{-1}$  dan  $603,72\text{ cm}^{-1}$ , dan terdapat gugus fosfat simetri *bending* pada gugus fungsi  $570,93\text{ cm}^{-1}$  dan  $569\text{ cm}^{-1}$  pada HA dan semua variasi sampel.

Pada sampel E dengan rasio alginat tertinggi mengalami pergeseran puncak dari panjang gelombang HA murni sebesar  $1631,78\text{ cm}^{-1}$  ke  $1610,56\text{ cm}^{-1}$  dan pada semua variasi sampel mengalami pergeseran puncak dari panjang gelombang HA murni sebesar  $1452,4\text{ cm}^{-1}$  ke  $1411,89\text{ cm}^{-1}$  dan  $1413,82\text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan terjadinya ikatan kimia antara fase mineral dan matriks organik yaitu interaksi yang terjadi antara muatan positif pada kalsium dan muatan negatif dari gugus karboksil sodium alginat. Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Xie (2010), interaksi molekul antara mineral anorganik dan rantai alginat dalam jaringan polimer dapat digunakan untuk mengendalikan nukleasi dan pertumbuhan fase anorganik, selain itu menurut Zhang (2003) kalsium pada hidroksiapatit berfungsi sebagai *cross linker* alginat yang saling terhubung satu sama lain membentuk pola “*egg box*“. Pada bahan alginat dengan panjang gelombang  $1612,49\text{ cm}^{-1}$  mengalami pergeseran pada sampel A menjadi  $1627,92\text{ cm}^{-1}$ , sampel B menjadi  $1635,64\text{ cm}^{-1}$ , sampel C menjadi  $1643,35\text{ cm}^{-1}$ , dan

sampel D menjadi  $1620,21 \text{ cm}^{-1}$  yang menandakan adanya koordinasi antara gugus  $\text{COO}^-$  dan  $-\text{OH}$  dari alginat dan *zinc*. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Liu (2014) bahwa koordinasi antara kedua gugus fungsi ini akan membentuk kompleks *zinc* alginat.

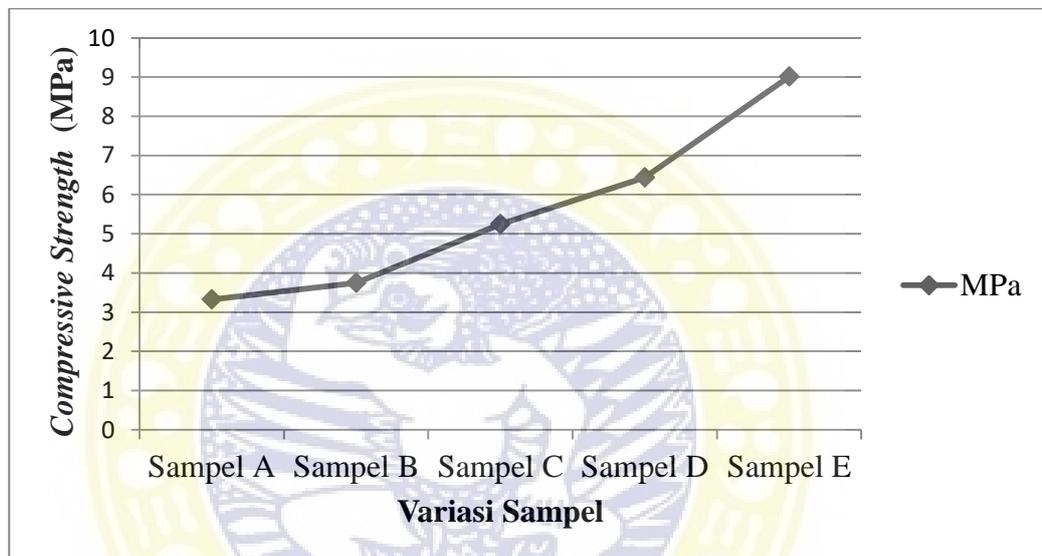
#### 4.2 Uji *Compressive strength*

Salah satu parameter yang harus diperhatikan untuk aplikasi teknik jaringan dengan menggunakan *bone graft* adalah sifat mekanik. Sifat mekanik yang baik pada *bone graft* akan tahan terhadap lingkungan biomekanikal kompleks seperti perubahan *stress* dan *strain* dari tekanan dan aliran cairan di dalam tubuh, tahan terhadap beban yang diberikan oleh tubuh baik yang diakibatkan melalui pergerakan ataupun tidak, kemudian deformasi selular yang dapat memberi dampak pada aktivitas biologis sehingga pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kekuatan mekanik dari sampel *bone graft* hidroksiapatit-alginat-*zinc* dengan melakukan uji *compressive strength* atau kuat tekan. Hasil dari uji *compressive strength* disajikan pada Tabel 4.2 dengan diameter *bone graft* sebesar 0,008 m (Perhitungan dilihat pada Lampiran 3).

**Tabel 4.2** Data Hasil Pengujian *Compressive strength*

Sampel	Load (N)	<i>Compressive strength</i> (MPa)
A	166,967	$3,3233 \pm 0,2240$
B	188,433	$3,7506 \pm 0,1303$
C	248,6	$5,2467 \pm 0,0463$
D	323,333	$6,4357 \pm 0,0254$
E	452,7	$9,0107 \pm 0,1842$

Berdasarkan data hasil uji *compressive strength* yang telah diperoleh, dilakukan analisa terhadap pengaruh variasi alginat dan *zinc* terhadap sifat fisis dan mekanik dari *bone graft* hidroksiapatit-alginat-*zinc*. Dari Tabel 4.3 selanjutnya dapat dibuat grafik hubungan antara variasi komposisi alginat-*zinc* terhadap nilai *compressive strength* sebagaimana disajikan pada Gambar 4.10.



**Gambar 4.10** Grafik Hubungan Variasi Komposisi Alginat dan *Zinc* dengan *Compressive strength*

Dari grafik pada Gambar 4.10 nampak adanya kenaikan nilai kuat tekan dari sampel A hingga sampel E yaitu sebesar 3,3233 MPa hingga 9,0107 MPa. Pada hasil uji kuat tekan yang telah diperoleh, sampel E memiliki nilai *compressive strength* tertinggi yaitu sebesar 9,0107 MPa. Nilai *compressive strength* pada sampel E telah memenuhi syarat nilai kuat tekan pada tulang *cancellous* yaitu pada *range* 7,5-41 MPa (Ylinen, 2006). Sedangkan sampel A, B, C, dan D belum memenuhi standar nilai *compressive strength* untuk tulang *cancellous*. Nilai

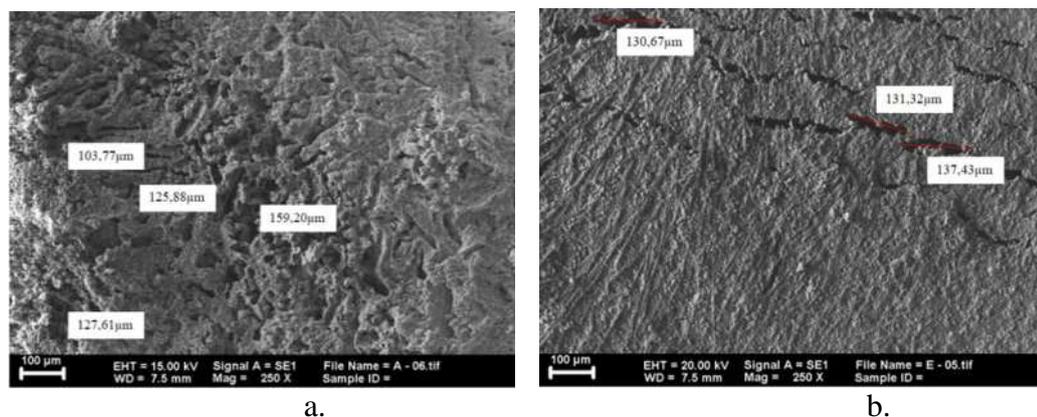
*compressive strength* yang diperoleh ini lebih besar jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya oleh Oktavina, O (2013) yang hanya menggunakan bahan hidroksiapatit dan alginat 12wt% dengan perolehan nilai *compressive strength* sebesar 3,06 MPa, Trisnawati (2014) dengan bahan hidroksiapatit dan alginat 14wt% dengan perolehan nilai *compressive strength* sebesar 5,68 MPa, dan Yolanda, C (2017) dengan menggunakan bahan hidroksiapatit, alginat, dan gelatin dengan perolehan nilai *compressive strength* sebesar 8,5889 MPa.

Seiring dengan penambahan alginat, nilai *compressive strength* pada *bone graft* semakin meningkat, hal ini dikarenakan ion kation pada alginat yang berfungsi sebagai *gelling agent* meningkatkan kekuatan pada *bone graft* sehingga tidak mudah hancur jika diberi tekanan pada penampang *bone graft* karena dapat menstabilkan *bone graft* dan memberikan struktur *bone graft* yang kuat dan tidak *brittle*. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Zhang (2003) bahwa peningkatan nilai kuat tekan ini merupakan efek positif dari interaksi kalsium sebagai *crosslinker* alginat. Selain adanya *crosslink*, terjadi ikatan ionik dan struktur “egg box” yang terjadi antara *zinc* dan alginat karena adanya afinitas *zinc* terhadap asam guluronik dan manuronat dari alginat itu sendiri (Cuozzo, 2017). Hal ini dapat memberikan kontribusi terhadap sifat mekanik pada *bone graft* hidroksiapatit-alginat-*zinc*. Sedangkan menurut penelitian yang dilakukan Norhidayu (2008) hanya terjadi pertukaran ion antara  $\text{Ca}^{2+}$  pada hidroksiapatit dan  $\text{Zn}^{2+}$  karena hidroksiapatit memiliki kemampuan untuk menerima ion pengganti seperti ion divalen, maka pada sampel A *crosslink* yang terjadi tidak sebanyak

sampel E yang memiliki rasio alginat dan HA yang lebih tinggi, hal ini menyebabkan sampel A lebih mudah hancur bila dibandingkan dengan sampel E.

#### 4.3 Uji Morfologi (SEM)

Uji morfologi dengan menggunakan *scanning electron microscop* merupakan uji untuk mengetahui morfologi pada permukaan *bone graft*. Sampel yang sudah disiapkan *dicoating* dengan menggunakan karbon pada sebuah tempat yang terbuat dari bahan logam yang dilapisi dengan menggunakan palladium, kemudian sampel dimasukkan ke dalam spesimen tersebut dan ditembakkan dengan menggunakan elektron. Elektron yang dipantulkan akan dideteksi oleh detektor sintilator yang diperkuat dengan suatu rangkaian listrik sehingga akan menghasilkan gambar sesuai dengan letak yang telah dideteksi pada layar *Cathode Ray Tube* (CRT). Morfologi permukaan *bone graft* diambil pada bagian tertentu dengan perbesaran yang diinginkan sampai morfologi permukaan terlihat jelas dan pori pada permukaan *bone graft* dapat ditemukan. Pada penelitian ini dilakukan uji morfologi *scanning electron microscop* (SEM) terhadap 2 sampel yaitu sampel E yang merupakan sampel dengan karakteristik terbaik dan sampel A dengan karakteristik terendah. Hasil uji SEM dari kedua sampel dengan menggunakan perbesaran 250x dapat dilihat pada Gambar 4.11.



**Gambar 4.11** Hasil Uji SEM dengan Perbesaran 250x (a) Sampel A (b) Sampel E

Hasil SEM pada Gambar 4.11 yaitu *bone graft* hidroksiapatit-alginat-zinc sampel A dan sampel E menunjukkan morfologi permukaan yang kasar pada keseluruhan sampel *bone graft* yang menandakan bahwa partikel hidroksiapatit telah terdistribusi secara merata pada matriks sampel (Yongxiang, 2015). Pada sampel E terlihat struktur *bone graft* yang lebih kompak dibandingkan dengan sampel A yang terlihat lebih banyak pori dan struktur yang kasar dan tidak rata. Dengan menggunakan metode *freeze drying* ini bentuk partikel dari kedua sampel *bone graft* terlihat identik dan pori yang terbentuk berbentuk seperti jarum yang memanjang karena searah dengan bunga es yang terbentuk di dalam sampel saat terjadi proses *freeze* seperti pada penelitian Turco (2009).

Dari gambar hasil uji SEM pada sampel A yang ditunjukkan pada Gambar 4.11 (a) memperlihatkan diameter pori yang lebih besar jika dibandingkan dengan sampel E pada Gambar 4.9 (b) yang memiliki ukuran pori lebih kecil dan struktur permukaan yang lebih halus. Ukuran pori kedua sampel disajikan pada Tabel 4.3. Dari hasil tersebut sebanding dengan penelitian yang dilakukan oleh Cuozzo *et*

al,(2014) bahwa dengan penambahan *zinc* akan mengakibatkan diameter pori yang lebih besar karena afinitas *zinc* terhadap guluronic dan manuronic dari alginat yang membuat sampel A mempunyai retraksi yang lebih luas.

**Tabel 4.3** Ukuran Pori *Bone graft* Hidroksiapatit-Alginat-Zinc

Sampel	Rata-rata Ukuran Pori
Sampel A (Hap 8,8 : Alginat 0,2 : Zinc 1)	103,77 $\mu\text{m}$ – 159,20 $\mu\text{m}$
Sampel E (Hap 8,8 : Alginat 1 : Zinc 0,2)	130,67 $\mu\text{m}$ - 137,43 $\mu\text{m}$

Menurut Barralet (2005), diameter pori yang efektif untuk terjadinya pertumbuhan sel tulang adalah sekitar 100-300  $\mu\text{m}$ , berdasarkan data ukuran pori *bone graft* dari hasil uji SEM pada Tabel 4.4 menunjukkan bahwa sampel A dan sampel E sudah memenuhi syarat diameter pori yang efektif dalam pertumbuhan tulang karena ukuran diameter pori telah memenuhi syarat ukuran pori yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel osteoblas yaitu pada *range* 100-300  $\mu\text{m}$ , sehingga sampel A dan sampel E memungkinkan untuk dapat membantu terjadinya pembentukan jaringan tulang yang baru.

#### 4.4 Uji Porositas

Salah satu parameter yang penting untuk perkembangan dan perbaikan jaringan tulang adalah porositas, dengan adanya pori dapat memberikan *space*

bagi sel-sel tulang untuk bermigrasi, pertumbuhan sel, dan transpor nutrisi. Persentase porositas didapatkan dengan menggunakan perhitungan pada Persamaan 2.2. Hasil dari perhitungan persentase porositas disajikan pada Tabel 4.4.

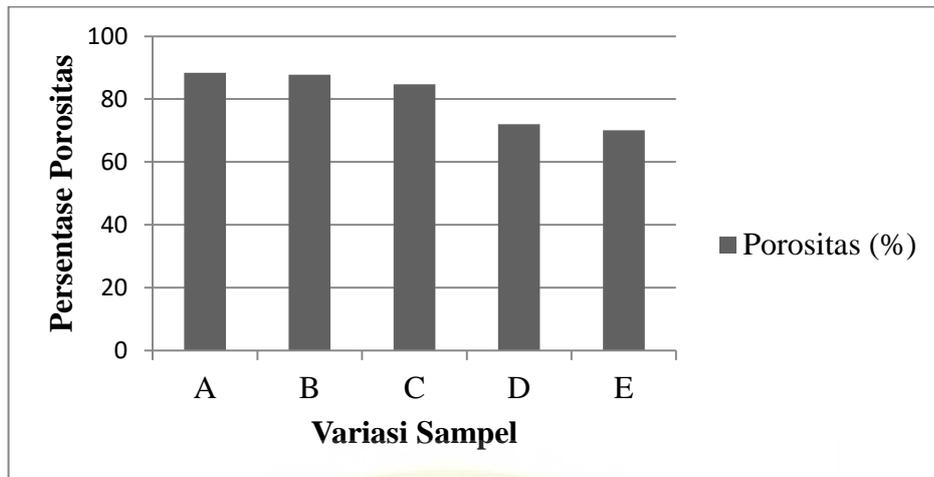
**Tabel 4.4** Hasil Uji Porositas *Bone graft*

Sampel	$W_d$ (gram)	$W_i$ (gram)	$W_w$ (gram)	Porositas (%)
A	0,3502	0,6583	0,4947	88,3251
B	0,3231	0,6782	0,4891	87,7842
C	0,2934	0,7328	0,4949	84,6994
D	0,3347	0,7370	0,5032	72,0701
E	0,3201	0,7754	0,5078	70,1420

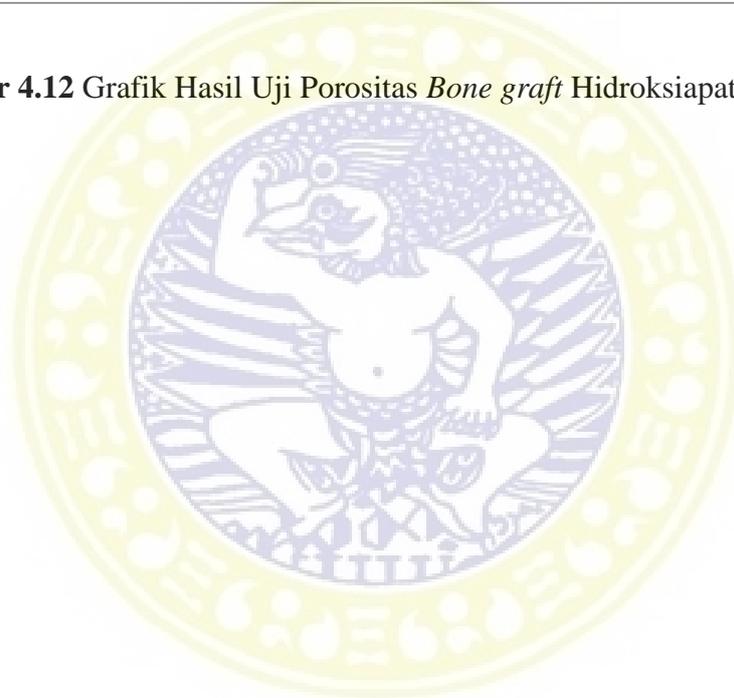
Berdasarkan Tabel 4.2 didapatkan persentase porositas terbesar adalah sampel A yaitu sebesar 88,3251%, sedangkan persentase porositas sampel terkecil adalah sampel E yaitu sebesar 70,1420%. Hal ini menunjukkan bahwa persentasi porositas semakin rendah seiring bertambahnya rasio alginat yaitu dengan perbandingan rasio hidroksiapatit-alginat-*zinc* 88:10:2 (% w/w) dan semakin tinggi seiring bertambahnya rasio *zinc* yaitu yaitu dengan perbandingan rasio hidroksiapatit-alginat-*zinc* 88:2:10 (% w/w). Sehingga persentase porositas akan semakin rendah dari sampel A sampai E seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.12.

Hasil uji dari kelima sampel menunjukkan persentase porositas yang tinggi yaitu berkisar 70-88% yang dihasilkan dari metode *freeze dry*. Metode *freeze dry* merupakan metode yang sangat efektif dalam pembentukan pori pada sampel,

sehingga dapat menghasilkan persentasi porositas yang sangat tinggi yaitu sekitar 90% dan memiliki pori yang saling terkoneksi satu sama lain (Walker J.L., dan Santoro M., 2017). Dari hasil uji porositas sampel *bone graft* hidroksiapatit-alginat-*zinc* menunjukkan bahwa pada sampel A persentasi porositas telah mencapai 88,3251% dan pada sampel B mencapai 87,7842%, sedangkan pada sampel C, D, dan E masih dalam kisaran angka yang mendekati 90% atau angka persentase porositas yang pada umumnya dicapai apabila menggunakan metode *freeze dry* yaitu 84,6994% untuk sampel C, 72,0701% untuk sampel D, dan 70,1420% untuk sampel E. Berdasarkan penelitian oleh Wall A., dan Board T. (2014), porositas ideal untuk memberikan keseimbangan optimal antara luas permukaan yang baik untuk melekatnya sel dan kekuatan struktur tulang trabekular atau *cancellous bone* adalah diatas 70%, dari hasil pengujian yang dilakukan semua variasi sampel telah memenuhi standar persentase porositas pada tulang *cancellous*. Berkurangnya porositas seiring penambahan rasio alginat sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rajkumar (2011) karena struktur *bone graft* yang semakin kompak bila sodium alginat semakin meningkat, hal ini dikarenakan adanya peningkatan ikatan antar partikel sehingga persentase porositas pada *bone graft* akan semakin berkurang.



**Gambar 4.12** Grafik Hasil Uji Porositas *Bone graft* Hidroksiapatit-Alginat-Zinc



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan analisis yang dilakukan selama penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Variasi penambahan alginat dan *zinc* memberikan pengaruh pada porositas, kuat tekan, dan ukuran pori pada *bone graft*. Semakin meningkat rasio alginat, menurunkan ukuran pori dengan diameter 130,67  $\mu\text{m}$  - 137,43  $\mu\text{m}$  sehingga dapat memperbaiki kekuatan *bone graft*, sedangkan dengan meningkatnya rasio *zinc*, meningkatkan ukuran diameter pori 103,77  $\mu\text{m}$  – 159,20  $\mu\text{m}$  sehingga keduanya sudah memenuhi syarat untuk pertumbuhan tulang. Persentase porositas 70,142 % pada *bone graft* dengan rasio alginat terbanyak dan mencapai 88,325% pada *bone graft* dengan rasio *zinc* terendah, sehingga keduanya sudah memenuhi nilai porositas terbaik untuk proliferasi dan melekatnya sel pada *cancellous bone*. Penambahan alginat meningkatkan nilai kuat tekan mencapai 9,0107 MPa, sedangkan *bone graft* dengan rasio *zinc* terbanyak hanya mencapai 3,3233 MPa.
2. Komposisi terbaik terdapat pada sampel E dengan variasi komposisi hidroksiapatit : alginat : *zinc* 88: 10 : 2 (%w/w) . Sampel E memiliki rata-rata ukuran pori sebesar 130,67  $\mu\text{m}$  - 137,43  $\mu\text{m}$  yang memungkinkan terjadinya neovaskularisasi dan pertumbuhan sel-sel tulang. Porositas

sebesar 70,142 % yang sudah memenuhi standar persentase porositas ideal untuk terjadinya proliferasi sel tulang pada tulang *cancellous*. Nilai *compressive strength* tertinggi sebesar 9,0107 MPa yang memenuhi standar nilai kuat tekan tulang *cancellous*.

## 5.2 Saran

Setelah dilakukan penelitian sintesis dan karakterisasi *bone graft* hidroksiapatit-alginat-zinc untuk penanganan *bone defect* diperoleh beberapa saran untuk pengembangan penelitian selanjutnya yaitu :

1. Perlu menggunakan *frame* untuk mencetak *bone graft* agar memiliki bentuk dan ukuran diameter pori yang seragam serta sebaran pori yang sama.
2. Perlu penambahan uji viabilitas sel menggunakan sel osteoblas dan sel osteoklas untuk mengetahui fungsi *zinc* sebagai pemicu proliferasi sel osteoblas dan penghambat sel osteoklas untuk mempercepat proses *healing* pada jaringan tulang yang rusak.
3. Perlu penambahan uji sitotoksitas untuk mengetahui sifat toksik dari *bone graft*, uji degradasi untuk mengetahui durasi ketahanan *bone graft* di dalam tubuh, dan uji *in vivo* untuk mengetahui kemampuan *bone graft* dalam membantu proses *remodelling* pada tulang.
4. Perlu melakukan perubahan persentase variasi bahan alginat dan *zinc* menjadi 14% untuk mengetahui variasi komposisi optimal agar *bone graft* memiliki karakteristik yang lebih baik dari sebelumnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, 2017, *Densitas Radiografi Implan Besi (Fe) Berpori dan Reaksi Jaringan pada Proses Persembuhan Tulang Femur Tikus Pasca Implantasi*, Institut Pertanian Bogor.
- AI-Aql ZS, Alagl AS, Graves DT, Gerstenfeld LC, Einhorn TA, 2008, *Molecular Mechanisms Controlling Bone Formation During Fracture Healing and Distraction Osteogenesis*, J Dent Res 87: 107–118.
- Anam, Chairul, Sirojudin, Firdausi, Sofjan K., 2007, *Analisis Gugus Fungsi pada Sampel Uji, Bensin dan Spiritus Menggunakan Metode Spektroskopi FTIR*, Berkala Fisika, Vol 10, No.1 : 79-85.
- Andersen T. L., Sondergaard T. E., K. E. Skorzynska *et al*, 2009, *A Physical Mechanism for Coupling Bone Resorption and Formation in Adult Human Bone*. American Journal of Pathology, Vol. 174, No. 1, pp. 239–247.
- Bakker A, Schrooten J, Van Ceynenbreugel T *et al*, 2008, *Quantitatif Screening of Engineered Implants in a Long Bone Defect Model in Rabbits*. Tissue Engineering. Vol. 14–3: 251–200.
- Barralet JE, Wang L, Lawson M, Triffitt JT, Cooper PR, Shelton RM. 2005. *Comparison of bone marrow cell growth on 2D and 3D alginate hydrogels*. J.Mater Sci Mater Med 16(6): 515-519
- Barth H.D., Launey M.E., MacDowell A.A., Ager J.W. III, Ritchie R.O., 2010, *On the Effect of X-ray Irradiation on The Deformation and Fracture Behaviour of Human Cortical Bone*. Bone, 46:1475–1485.
- Bhatt R.A., T.D., 2012, *Rozental, Bone graft substitutes, Hand Clin.* 28:457-468.
- Carrodegua, R.G.; Aza, S.D. 2011.  *$\alpha$ -Tricalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical applications*. Acta Biomater 7, 3536.
- Cuozzo R.C., Miguez M.H., Andrade L., Navarro D., Elmassalami N.M., Trindade W., Costa A.M., Prado M.H., 2014, *Zinc Alginate-Hydroxyapatite Composite Microspheres for Bone Repair*. Ceramics International, 40 : 11369-11375, Brazil.
- Dahlan, K. Prasetyanti, F. Sari, YW., 2009, *Sintesis Hidroksiapatit dari Cangkang Telur Menggunakan Dry Metode*, Jurnal Biofisika, 5(2):71-78.
- Das, D.; Zhang, S.; Noh, I. 2017. *Synthesis and characterizations of alginate- $\alpha$ -tricalcium phosphate microparticle hybrid film with flexibility and high mechanical property as biomaterials*. Biomed. Mater.

- David, Reid M., 2011, *Handbook of Osteoporosis*. London : Springer Health Care Ltd. C. 2 & 7.
- Depkes RI, 2009, *Sistem Kesehatan Nasional*, Jakarta.
- Dewi, Setia Utami, 2009, *Pembuatan Komposit Kalsium Fosfat-Kitosan dengan Metode Sonifikasi*, Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Fehragucci H., 2012, *Pengaruh Penambahan Plasticizer dan Kitosan terhadap Karakter Edible Film Ca-Alginat*. Universitas Negeri Surakarta, Surakarta.
- Fazzalari N. L., 2011, *Bone Fracture and Bone Repair, Bone Quality Seminars : Bone Healing and Strengthening*. Osteoporos Int, 22 : 2003-2006.
- Ferdiansyah., Rushadi, Djoko, Rantam, Fedik Abdul, Aulani'am, 2011, *Regenerasi pada Massive Bone Defect dengan Bovine Hidroxyapatite sebagai Scaffold Mesenchymal Stem Cell*. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Flynn JM., 2011, *Fracture Repair and Bone grafting*. OKU 10: Orthopaedic Knowledge Update. Rosemont, IL: American Academy of Orthopaedic Surgeons, 11-21.
- Goh C. H., Heng P.W.S., Huang E.P.E., Li B.K.H., Chan L.W., 2008. *Interactions of Antimicrobial Compounds With Cross-Linking Agents of Alginate Dressing*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 62, 105-108.
- Hamilton C. J., Reid L.S., Jamal S.A., 2013. *Organic Nitrates for Osteoporosis:an Update*. BoneKey Reports 2:259.
- Haryanto dan Sumarsih, 2008, *Penggunaan Topikal Alternatif: Adrenalin atau Calcium Alginat*.
- Haryoto, Muhtadi, Indrayudha, Peni, Azizah, Tanti, Suhendi, Andi, 2013, *Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan Sala (Cynometra ramiflora Linn) terhadap Sel HeLa, T47D dan WiDR*. Jurnal Penelitian Saintek, Vol. 18, Nomor 2, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Jamal S.A., Goltzman D., Hanley D.A., Papaioannou A., Prior J.C., Josse R.G., 2009. *Nitrate Use and Changes in Bone Mineral Density: The Canadian Multicentre Osteoporosis Study*. Osteoporos Int 20:737-744.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., 2007. *Histologi Dasar : Teks & Atlas*. Tambayong, J., Pentj Ed 10, 134 - 6.
- Jiang N., Qin Cheng-He, Ma Yun-Fei *et al*, 2016. *Possibility of One-Stage Surgery to Reconstruct Bone Defects Using The Modified Masquelet Technique with Degradable Calcium Sulfate as a Cement Spacer: A Case Report and Hypothesis*. Biomedical reports, 4 : 374-378. China.

- Khoirudin M., Yelmida, Zultinar, 2015, *Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit (HAp) dari Kulit Kerang Darah (Anadara Grosa) dengan Proses Hidrotermal*. JOM FTEKNIK, Volume 2 No. 2, Pekanbaru.
- Kurien T., Pearson R.G., Scammell B.E., 2013, *Bone graft Substitutes Currently Available in Orthopaedic Practice: The Evidence for Their Use*, Bone Jt. J., 95-b 583-597.
- Lin D., Luo D., Lian K., Zhai W., Ding Z., 2016, *Reconstructuion of Traumatic Bone Defect with In Situ Implantation of Dropped Traumatic Segmental Bone Fragments*, Othopedics, Vol.39 :Issue 1:e14-e18.
- Liu Y., Zhao J., Zhang C., HU JI, and Zhu P. 2014. The Flame Retardancy, Thermal Properties, and Degradation Mechanism of Zinc Alginate Films. *Journal of Macromolecular Science Part B: Physics*, 53:1074–1089, 2014
- Matsuo K. and Irie N., 2008, *Osteoclast-Osteoblast Communication*, Archives of Biochemistry and Biophysics, Vol. 473, No. 2, pp. 201–209.
- Mulyaningsih T.R., 2009, *Kandungan Unsur Fe dan Zn dalam Bahan Pangan Produk Pertanian, Peternakan dan Perikanan dengan Metode k0-AANI*, Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia, 10(2): 71-80.
- Nejdl L., Ruttkay-Nedecky B., Kudr J., Kremplova M., Cernei N., Prasek J., Konecna M., Hubalek J., Zitka O., Kynicky J., Kopel P., Kizek R., Adam V., 2013. *Behaviour of Zinc Complexes and Zinc Sulphide Nanoparticles Revealed by Using Screen Printed Electrodes and Spectrometry*. Sensors, 13, 14417-14437.
- Norhidayu D., Sopyan I., Ramesh S., 2008. *Development of Zinc Doped Hydroxyapatite for Bone Implant Applications*. Malaysia. International Conference on Constuction and Building Technology-F-(24)-pp257-270.
- Ova O., 2013, *Optimasi Variasi Komposisi pada Proses Pembuatan Bone graft Berbasis Hidroksiapatit dan Alginat*. Skripsi. Departemen Fisika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
- Paques J.P., Linden E.V.D., Cees J.M., Rijn van, Sagis L.M.C., 2014. *Preparation Methods of Alginate Nanoparticles*. Advances in Colloid and Interface Science.
- Pratiwi dan Niken, 2011, *Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit Scaffold*, FMIPA Institut Pertanian Bogor.
- Rajkumar M., Meenakshisundaram N., Rajendran V. 2011. *Development of Nanocomposites Based on Hydroxyapatite/Sodium Alginate: Synthesis and Characterisation*. Centre for Nanoscience and Technology, K.S.

Rangasamy College of Technology, Tiruchengode - 637 215, Tamil Nadu, India.

- Rogers K., 2011, *Bone and Muscle : Structure, Force and Motion*. New York : Britannica Educational Publishing, p. 44-4.
- Sahid, Anwar, Pandiangan, Dingse, Siahaan, Parluhutan., Rumondor M.J., 2013. *Uji Sitotoksitas Ekstrak Metanol Daun Sisik Naga (Drymoglossum Piloselloides Presl.) terhadap Sel Leukemia P388*. Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- Sarbijt, K., Niraj, B., Charu, K. 2013. *Preparation and Deposition of Hydroxyapatite on Biomaterials by Sol-gel Technique-A Review*. *Chemistry Review*. Vol. 1(2):59-69.
- Shapherd D., and Serena M. 2013. *Production of Zinc Subtituted Hydroxyapatite Using Various Precipitation Routes*. Department of Materials Science and Metallurgy. University of Cambridge. Pembroke Street, Cambridge.
- Shepherd D.V., Kauppinen K., Brooks R.A., Best S.M., 2014, *An In Vitro Study into The Effect of Zinc Substituted Hydroxyapatite on Osteoclast Number and Activity*, *J Biomed Mater Res A*, 102: 413641.
- Sims N. A. and Gooi J. H., 2008, *Bone Remodeling: Multiple Cellular Interactions Required for Coupling of Bone Formation and Resorption*, *Seminars in Cell and Developmental Biology*, Vol. 19, No. 5, pp. 444–451.
- Situngkir J., 2008, *Pembuatan dan Karakterisasi Fisikokimia Bahan Cetak Gigi Palsu Kalsium Alginat*, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Sriamornsak P., Sungthongjeen S., 2007. *Modification of Theophylline Release with Alginat Gel Formed in Hard Capsules*, *AAPS Pharmascitech*, <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB882E/AB882E14.htm>.
- Suryadi, 2011, *Sintesis dan Karakterisasi Biomaterial Hidroksiapatit dengan Proses Pengendapan Kimia Basah*. Fakultas Teknik, Universitas Indonesia, Depok.
- Syafrudin H., 2011, *Analisis Mikrostruktur, Sifat Fisis dan Sifat Mekanik Keramik Jenis Refraktori*, Skripsi, Departemen Fisika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Tandra, H. 2009. *Osteoporosis Mengenal, Mengatasi, dan Mencegah Tulang Keropos*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Tavassoli-Kafrani, E., Shekarchizadeh, H., dan Masoudpour-Behabadi, M., 2015. *Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans*. *Carbohydrate Polymers*.

- Tortora G., 1983, *Principles of Human Anatomy*, 3d ed., Harper & Row. New York.
- Triono P., Murinto, 2015, *Aplikasi Pengolahan Citra untuk Mendeteksi Fraktur Tulang dengan Metode Deteksi Tepi Canny*, Jurnal Informatika, Vol. 9, No. 2, Program Studi Teknik Informatika Universitas Ahmad Dahlan.
- Trisnawati M., Djony Izak, Siswanto, 2014, *Sintesis Dan Karakterisasi Bone graft Hidroksiapatit-Alginat Dengan Metode Ex-Situ*. Jurnal Fisika Dan Terapannya, Vol. 2, No. 3, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Timothy T. R., Rosenbaum Andrew J., 2012, *Bone grafts, Bone Substitutes and Orthobiologics*, Organogenesis, 8:4, 114-124.
- Turco G., Marsich E., Bellomo F., Semeraro S., Donati I., Brun F., Grandolfo M., Accardo A., and Paoletti S. 2009. *Alginate/Hydroxyapatite Biocomposite for Bone Ingrowth: A Trabecular Structure with High and Isotropic Connectivity*. *Biomacromolecules*. 10, 1575–1583.
- Walker J.L., and Santoro M., 2017. *Processing and Production of Bioresorbable Polymmer Scaffold for Tissue Engineering*. Bioresorbable Polymer for Biomedical Appilcations. From Fundamentals to Translational Medicine. Pages 181-203.
- Wall A. and Board T., 2014. *The Compressive Behavior of Bone as a Two-Phase Porous Structure*. Department of Orthopaedic Surgery, Wrightington Hospital, WN6 9EP, Wigan, Lancashire, UK. *Classic Papers in Orthopaedics*.
- Wattanuchariya, Wassanai, Changkowchai, Whattanapong, 2014, *Characterization of Porous Scaffold from Chitosan-Gelatin/Hydroxyapatite for Bone grafting*. Proceedings of the International MultiConference of Engineers and Computer Scientists, Vol. II. IMECS, 12 - 14, Hong Kong.
- Widyaning dan Agnes Kristanti, 2012, *Sintesis dan Karakterisasi Kolagen dari Tendon Sapi (Bos Sondaicus) sebagai Bahan Bone Filler Komposit Kolagen-Hidroksiapatit*, Skripsi, Departemen Fisika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Xie M, Olderøy M, Andreassen JP, Selbach SM, Strand BL, Sikorski P. *Alginate-controlled formation of nanoscale calcium carbonate and hydroxyapatite mineral phase within hydrogel networks*. *Acta Biomater* 2010;6:3665–75.
- Ylinen P., 2006, *Aplication of Coralline Hidroxyapatite with Bioabsorbable Containment and Reinforcement as Bone graft Substitute*. Academic Dissertation, Departement of Orthopaedic and Traumatology, Helsinki University Central Hospitaland University of Helsinki, Helsinki.

Yolanda C., 2017, *Sintesis dan Karakterisasi Bone graft Hidroksiapatit-Alginat-Gelatin Untuk Penanganan Kerusakan Tulang*, Surabaya, Universitas Airlangga.

Yongxiang, Luo, Anja Lode, Ashwini Rahul Akkineni, and Michael Gelinsky. 2015. *Concentrated Gelatin/Alginate Composites for Fabrication of Predesigned Scaffolds with a Favorable Cell Response by 3D Plotting*. Royal Society of Chemistry, University of California.

Zhang S.M., Cui F.Z., Liao S.S., Zhu Y., and Han L. 2003. *Synthesis and Biocompatibility of Porous Nano-hydroxyapatite/Collagen/Alginate Composite*. *Journal of Materials Science : Materials in Medicine* 14 (2003); 641-645.



## Lampiran 1

### Alat dan Bahan



Bahan Hidroksiapatit, Alginat, Zinc Nitrat

Penimbangan bahan



*Magnetic Stirrer*



Proses pembuatan cetakan sampel



Bahan setelah ditimbang



Pengumpulan sampel di dalam *ice box*



Proses pencampuran setiap bahan



Proses *freeze* sampel



Proses *Freeze dried*



*Bone graft* yang sudah di *coating*



Sampel setelah proses *freeze dried*



Proses uji SEM



Proses uji kuat tekan



Proses uji porositas

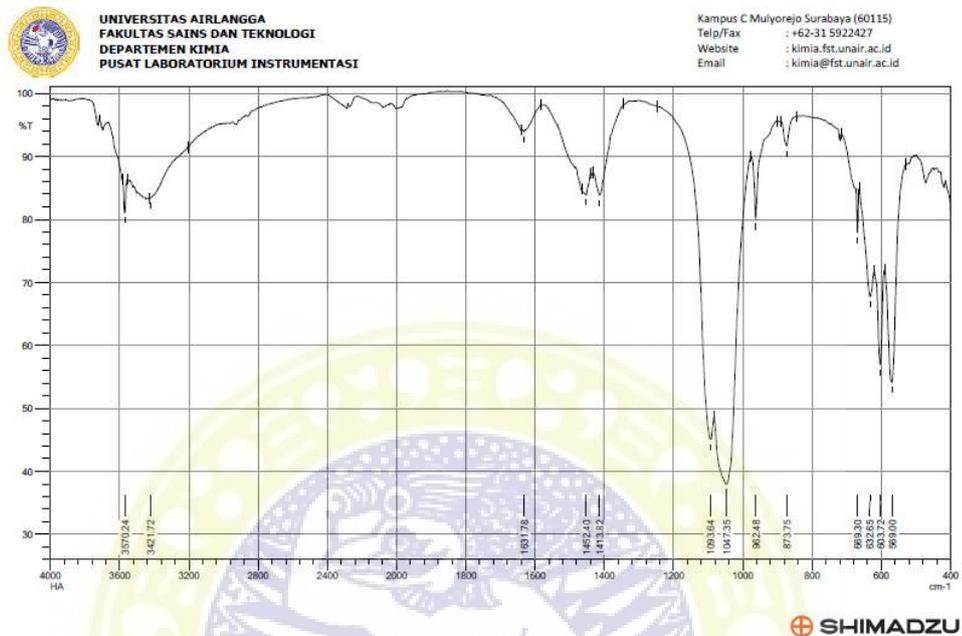


Proses uji porositas saat sampel dikeringkan

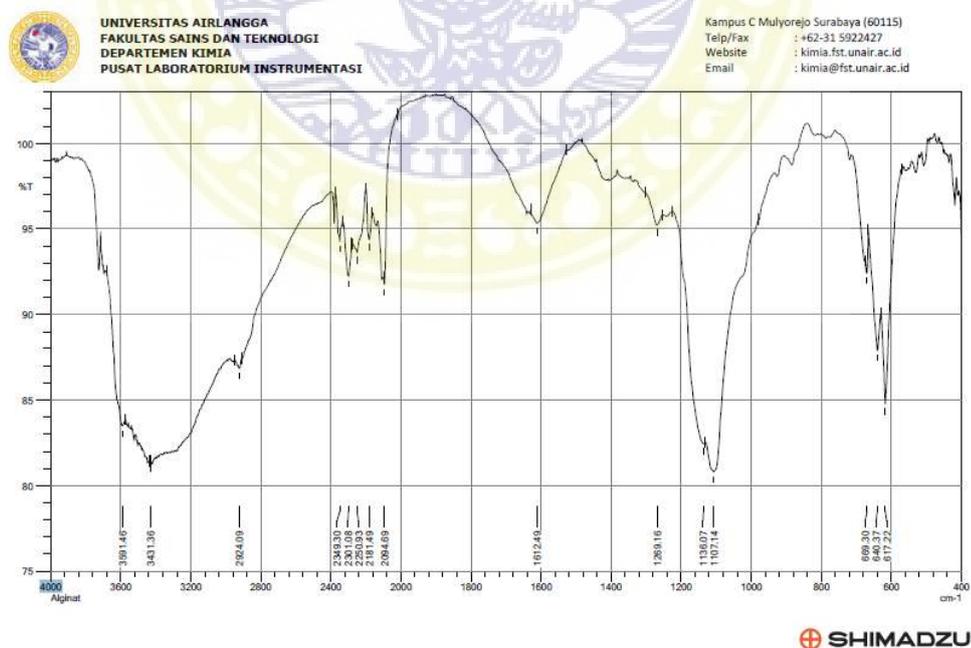


## Lampiran 2

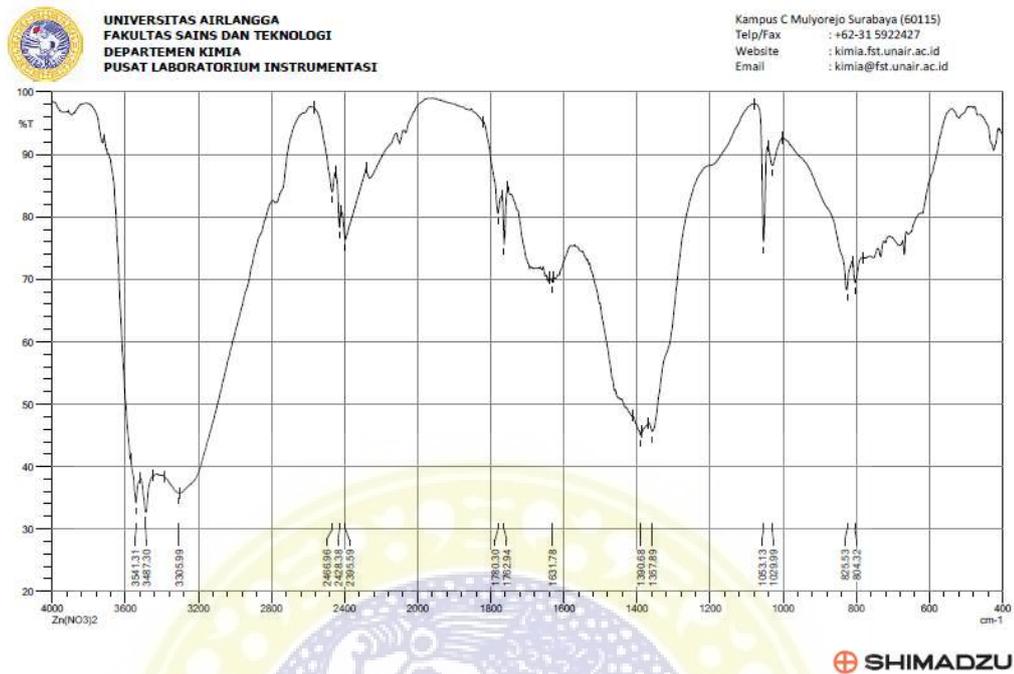
## Hasil Uji FTIR



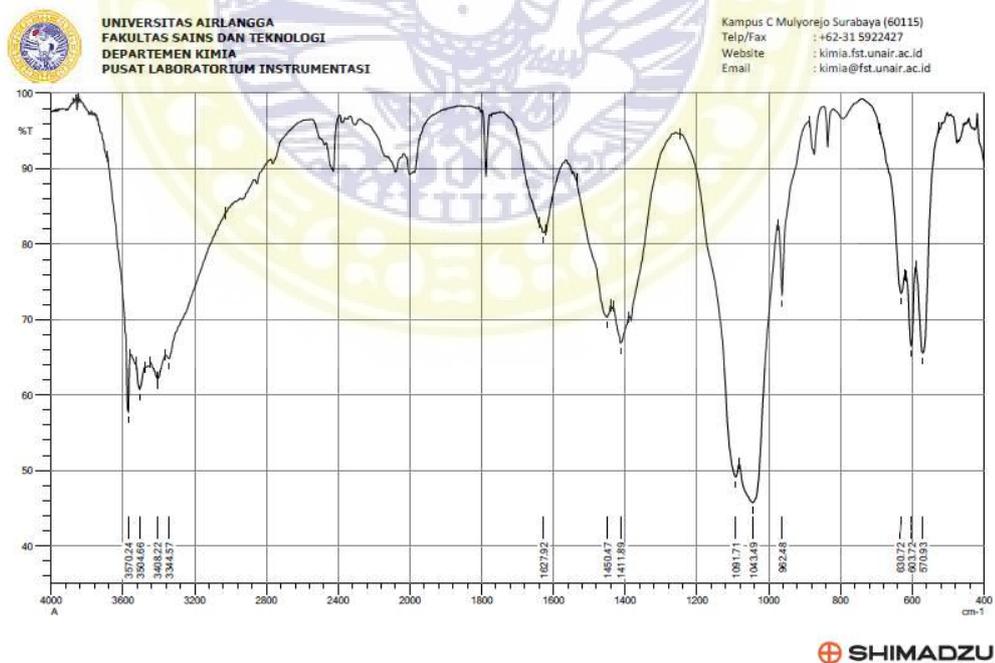
Hasil FTIR Hidroksiapatit



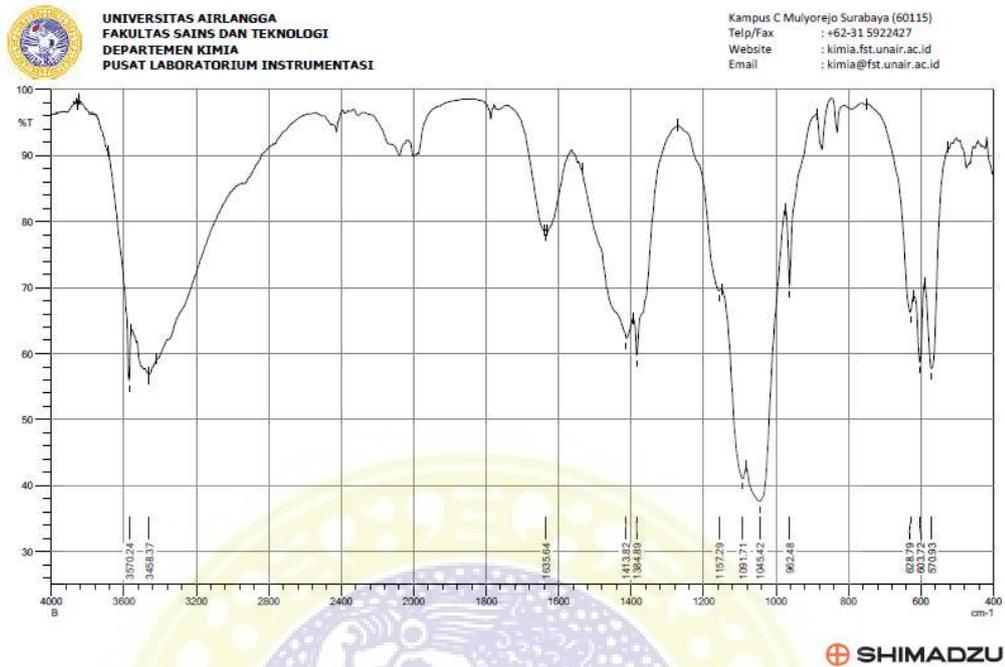
Hasil FTIR Alginat

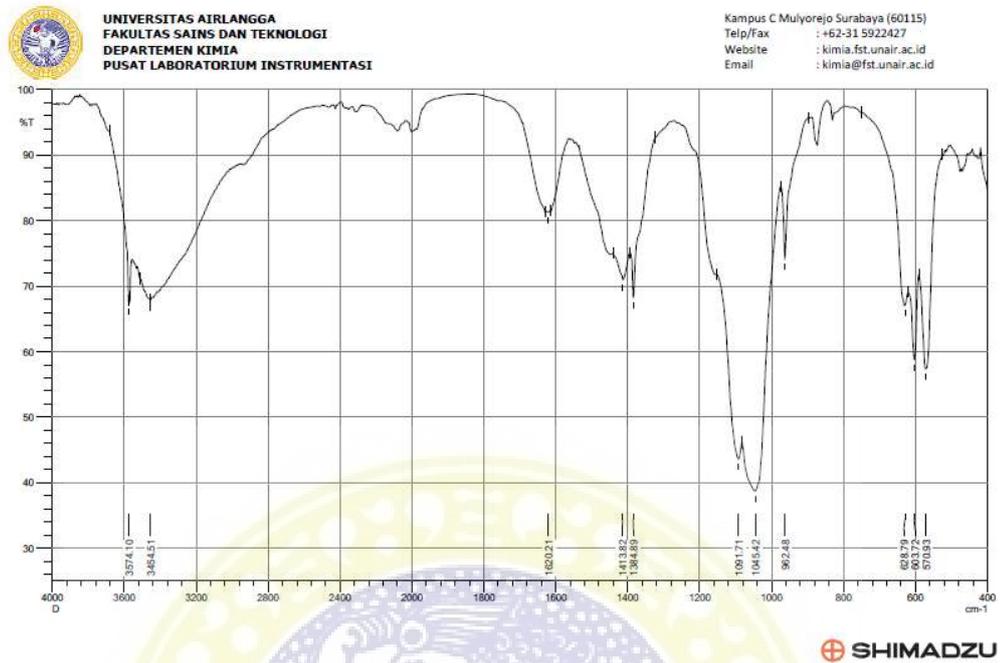


Hasil FTIR Zinc



Hasil FTIR bone graft Sampel A

Hasil FTIR *bone graft* Sampel BHasil FTIR *bone graft* Sampel C



Hasil FTIR *bone graft* Sampel D



Hasil FTIR *bone graft* Sampel E

**Tabel 1.** Data Bilangan Gelombang Hasil FTIR Hidroksiapatit-Natrium Alginat-Zinc

Gugus	Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )							
	HA	Alginat	Zinc	Sampel A	Sampel B	Sampel C	Sampel D	Sampel E
O-H stretching	3570,24 dan 3421,72	3591,46 dan 3431,36	-	3570,24 ; 3504,66 ; dan 3344,57	3570,24	3570,24	3574,1	-
N-H stretching	-	-	-	3408,22	3458,37	3458,37	3454,51	3423,65
C-H	-	2924,09	-	-	-	-	-	-
COO <sup>-</sup> asimetri	-	1612,49	-	1627,92	1635,64	1643,35	1620,21	1610,56
COO <sup>-</sup> simetri	-	-	-	1450,47 dan 1411,89	1413,82	1413,82	1413,82	1456,26 dan 1413,82
O-N-O simetri stretching	-	-	1390,68 dan 1357,89	-	1384,89	-	1384,89	-
C-O simetri stretching	1452,4	1269,16 ; 1136,07 dan 1107,14	-	-	-	-	-	-
PO <sub>4</sub> asimetri stretching	1093,64 dan 1047,35	-	-	1091,71 dan 1043,49	1157,29; 1091,71 dan 1045,42	1091,71 dan 1045,42	1091,71 dan 1045,42	1091,71 dan 1045,42
PO <sub>4</sub> simetri stretching	962,48	-	-	962,48	962,48	962,48	962,48	962,48
CO <sub>3</sub>	873,75 dan 669,3	-	-	-	-	-	-	-
C-Cl stretching	-	-	-	630,72	628,79	628,79	628,79	628,79
PO <sub>4</sub> asimetri bending	632,65 dan 603,72	-	-	603,72	603,72	603,72	603,72	601,79
PO <sub>4</sub> simetri bending	569	-	-	570,93	570,93	570,93	570,93	570,93

### Lampiran 3

Hasil Uji *Compressive strength*

- Pengambilan data dilakukan sebanyak 3 kali pada setiap variasi sampel
- Data yang diambil berupa diameter (d) dan gaya (F)
- Diameter sampel sebesar 0,8 cm ( $8 \times 10^{-2}$  m)

**Tabel 2.** Perhitungan *Compressive strength*

Sampel	Load (N)		
	Pengukuran Ke-1	Pengukuran Ke-2	Pengukuran Ke-3
A	177,1	168,9	154,9
B	193	191,3	181
C	216,7	264,7	264,4
D	323,4	323	323,6
E	444,8	462,9	450,4

Perhitungan nilai uji *compressive strength*

$$\text{Rumus : } \sigma = \frac{F}{A} = \frac{F}{\frac{1}{4} \pi d^2}$$

- Sampel A<sub>1</sub>

$$\begin{aligned} \sigma_1 &= \frac{F}{A} = \frac{F}{\frac{1}{4} \pi d^2} \\ &= \frac{177,1}{\frac{1}{4} 3,14 (0,008)^2} \end{aligned}$$

$$= \frac{177,1}{50,24 \cdot 10^{-6}}$$

$$= 3,525 \text{ MPa}$$

- Sampel A<sub>2</sub>

$$\sigma_2 = \frac{F}{A} = \frac{F}{\frac{1}{4} \pi d^2}$$

$$= \frac{168,9}{\frac{1}{4} 3,14 (0,008)^2}$$

$$= \frac{168,9}{50,24 \cdot 10^{-6}}$$

$$= 3,3618 \text{ MPa}$$

- Sampel A<sub>3</sub>

$$\sigma_3 = \frac{F}{A} = \frac{F}{\frac{1}{4} \pi d^2}$$

$$= \frac{154,9}{\frac{1}{4} 3,14 (0,008)^2}$$

$$= \frac{154,9}{50,24 \cdot 10^{-6}}$$

$$= 3,0832 \text{ MPa}$$

- Rata-rata Sampel A

$$\langle \sigma \rangle = \frac{\sigma_1 + \sigma_2 + \sigma_3}{3} = \frac{3,525 + 3,3618 + 3,0832}{3}$$

$$= \frac{9,97}{3}$$

$$= 3,3233 \text{ MPa}$$

- Ketidakpastian Sampel A

$$\Delta \sigma = \sqrt{\frac{\sum \sigma_i^2 - n \langle \sigma \rangle^2}{(n - 1)}}$$

$$= \sqrt{\frac{33,2333 - 3 \times 11,0443}{(3 - 1)}}$$

$$= \sqrt{\frac{33,2333 - 33,1329}{2}}$$

$$= 0,2240$$

$$\sigma = 3,3233 \pm 0,2240 \text{ MPa}$$

- Sampel B<sub>1</sub>

$$\begin{aligned} \sigma_1 &= \frac{F}{A} = \frac{F}{\frac{1}{4} \pi d^2} \\ &= \frac{193}{\frac{1}{4} 3,14 (0,008)^2} \\ &= \frac{193}{50,24 \cdot 10^{-6}} \\ &= 3,8415 \text{ MPa} \end{aligned}$$

- Sampel B<sub>2</sub>

$$\begin{aligned} \sigma_2 &= \frac{F}{A} = \frac{F}{\frac{1}{4} \pi d^2} \\ &= \frac{191,3}{\frac{1}{4} 3,14 (0,008)^2} \\ &= \frac{191,3}{50,24 \cdot 10^{-6}} \\ &= 3,8077 \text{ MPa} \end{aligned}$$

- Sampel B<sub>3</sub>

$$\sigma_3 = \frac{F}{A} = \frac{F}{\frac{1}{4} \pi d^2}$$

$$= \frac{181}{\frac{1}{4} \cdot 3,14 \cdot (0,008)^2}$$

$$= \frac{181}{50,24 \cdot 10^{-6}}$$

$$= 3,6027 \text{ MPa}$$

- Rata-rata Sampel B

$$\langle \sigma \rangle = \frac{\sigma_1 + \sigma_2 + \sigma_3}{3} = \frac{3,8415 + 3,8077 + 3,6027}{3}$$

$$= \frac{11,2519}{3}$$

$$= 3,7506 \text{ MPa}$$

- Ketidakpastian Sampel B

$$\Delta \sigma = \sqrt{\frac{\sum \sigma_i^2 - n \langle \sigma \rangle^2}{(n-1)}}$$

$$= \sqrt{\frac{42,2350 - 3 \times 14,0679}{(3-1)}}$$

$$= \sqrt{\frac{42,2350 - 42,2010}{2}}$$

$$= 0,1303$$

$$\sigma = 3,7506 \pm 0,1303 \text{ MPa}$$

- Sampel C<sub>1</sub>

$$\sigma_1 = \frac{F}{A} = \frac{F}{\frac{1}{4} \pi d^2}$$

$$= \frac{216,7}{\frac{1}{4} \cdot 3,14 \cdot (0,008)^2}$$

$$= \frac{216,7}{50,24 \cdot 10^{-6}}$$

$$= 5,2089 \text{ MPa}$$

- Sampel C<sub>2</sub>

$$\begin{aligned}\sigma_2 &= \frac{F}{A} = \frac{F}{\frac{1}{4}\pi d^2} \\ &= \frac{264,7}{\frac{1}{4}3,14(0,008)^2} \\ &= \frac{264,7}{50,24 \cdot 10^{-6}} \\ &= 5,2687 \text{ MPa}\end{aligned}$$

- Sampel C<sub>3</sub>

$$\begin{aligned}\sigma_3 &= \frac{F}{A} = \frac{F}{\frac{1}{4}\pi d^2} \\ &= \frac{264,4}{\frac{1}{4}3,14(0,008)^2} \\ &= \frac{264,4}{50,24 \cdot 10^{-6}} \\ &= 5,2627 \text{ MPa}\end{aligned}$$

- Rata-rata Sampel C

$$\begin{aligned}\sigma &= \frac{\sigma_1 + \sigma_2 + \sigma_3}{3} = \frac{5,2089 + 5,2687 + 5,2627}{3} \\ &= \frac{15,7403}{3} \\ &= 5,2467 \text{ MPa}\end{aligned}$$

- Ketidakpastian Sampel C

$$\begin{aligned}\Delta\sigma &= \sqrt{\frac{\sum\sigma_i^2 - n \langle \sigma \rangle^2}{(n-1)}} \\ &= \sqrt{\frac{82,5877 - 3 \times 27,5248}{(3-1)}}\end{aligned}$$

$$= \sqrt{\frac{82,5877 - 82,5834}{2}}$$

$$= 0,0463$$

$$\sigma = 5,2467 \pm 0,0463 \text{ MPa}$$

- Sampel D<sub>1</sub>

$$\sigma_1 = \frac{F}{A} = \frac{F}{\frac{1}{4} \pi d^2}$$

$$= \frac{323,4}{\frac{1}{4} 3,14 (0,008)^2}$$

$$= \frac{323,4}{50,24 \cdot 10^{-6}}$$

$$= 6,4371 \text{ MPa}$$

- Sampel D<sub>2</sub>

$$\sigma_2 = \frac{F}{A} = \frac{F}{\frac{1}{4} \pi d^2}$$

$$= \frac{323}{\frac{1}{4} 3,14 (0,008)^2}$$

$$= \frac{323}{50,24 \cdot 10^{-6}}$$

$$= 6,4291 \text{ MPa}$$

- Sampel D<sub>3</sub>

$$\sigma_3 = \frac{F}{A} = \frac{F}{\frac{1}{4} \pi d^2}$$

$$= \frac{323,6}{\frac{1}{4} 3,14 (0,008)^2}$$

$$= \frac{323,6}{50,24 \cdot 10^{-6}}$$

$$= 6,441 \text{ MPa}$$

- Rata-rata Sampel D

$$\begin{aligned}\sigma &= \frac{\sigma_1 + \sigma_2 + \sigma_3}{3} = \frac{6,4371 + 6,4291 + 6,441}{3} \\ &= \frac{19,3072}{3} \\ &= 6,4357 \text{ MPa}\end{aligned}$$

- Ketidakpastian Sampel D

$$\begin{aligned}\Delta\sigma &= \sqrt{\frac{\sum\sigma_i^2 - n \langle \sigma \rangle^2}{(n-1)}} \\ &= \sqrt{\frac{124,2559 - 3 \times 41,4182}{(3-1)}} \\ &= \sqrt{\frac{124,2559 - 124,2546}{2}} \\ &= 0,0254\end{aligned}$$

$$\sigma = 6,4357 \pm 0,0254 \text{ MPa}$$

- Sampel E<sub>1</sub>

$$\begin{aligned}\sigma_1 &= \frac{F}{A} = \frac{F}{\frac{1}{4}\pi d^2} \\ &= \frac{444,8}{\frac{1}{4} \cdot 3,14 \cdot (0,008)^2} \\ &= \frac{444,8}{50,24 \cdot 10^{-6}} \\ &= 8,8535 \text{ MPa}\end{aligned}$$

- Sampel E<sub>2</sub>

$$\sigma_2 = \frac{F}{A} = \frac{F}{\frac{1}{4}\pi d^2}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{462,9}{\frac{1}{4} \cdot 3,14 \cdot (0,008)^2} \\
 &= \frac{462,9}{50,24 \cdot 10^{-6}} \\
 &= 9,2137 \text{ MPa}
 \end{aligned}$$

- Sampel E<sub>3</sub>

$$\begin{aligned}
 \sigma_3 &= \frac{F}{A} = \frac{F}{\frac{1}{4} \pi d^2} \\
 &= \frac{450,4}{\frac{1}{4} \cdot 3,14 \cdot (0,008)^2} \\
 &= \frac{450,4}{50,24 \cdot 10^{-6}} \\
 &= 8,9649 \text{ MPa}
 \end{aligned}$$

- Rata-rata Sampel E

$$\begin{aligned}
 \sigma &= \frac{\sigma_1 + \sigma_2 + \sigma_3}{3} = \frac{8,8535 + 9,2137 + 8,9649}{3} \\
 &= \frac{27,0321}{3} \\
 &= 9,0107 \text{ MPa}
 \end{aligned}$$

- Ketidakpastian Sampel E

$$\begin{aligned}
 \Delta\sigma &= \sqrt{\frac{\sum \sigma_i^2 - n \langle \sigma \rangle^2}{(n-1)}} \\
 &= \sqrt{\frac{243,646 - 3 \times 81,1927}{(3-1)}} \\
 &= \sqrt{\frac{243,646 - 243,5781}{2}} \\
 &= 0,1842
 \end{aligned}$$

$$\sigma = 9,0107 \pm 0,1842 \text{ MPa}$$

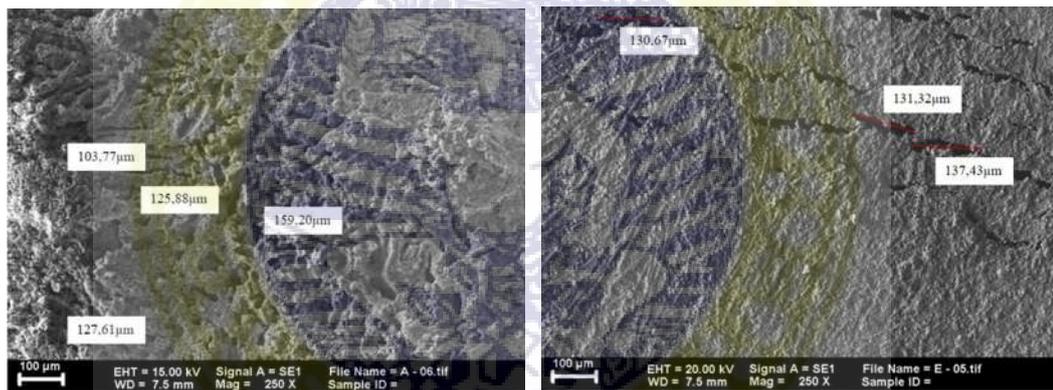
**Tabel 3.** Data Hasil Perhitungan Nilai Uji *Compressive strength*

Sampel	Load (N)	<i>Compressive strength</i> (MPa)	<i>Compressive strength</i> rata-rata (MPa)
A	177,1	3,525	3,3233 ± 0,2240
	168,9	3,3618	
	154,9	3,0832	
B	193	3,8415	3,7506 ± 0,1303
	191,3	3,8077	
	181	3,6027	
C	216,7	5,2089	5,2467 ± 0,0463
	264,7	5,2687	
	264,4	5,2627	
D	323,4	6,4371	6,4357 ± 0,0254
	323	6,4291	
	323,6	6,441	
E	444,8	8,8535	9,0107 ± 0,1842
	462,9	9,2137	
	450,4	8,9649	

## Lampiran 4

### Hasil Uji SEM

- Sampel yang di uji SEM adalah sampel dengan karakteristik terbaik dan terendah
- Sampel dengan karakteristik terbaik adalah sampel E
- Sampel dengan karakteristik terendah adalah sampel A
- Dilakukan pada perbesaran 250x



Sampel A

Sampel E

## Lampiran 5

Hasil Uji Porositas

**Tabel 4.** Data Hasil Uji Porositas

Sampel	W <sub>d</sub> (gram)	W <sub>i</sub> (gram)	W <sub>w</sub> (gram)	Porositas (%)
A	0,3502	0,6583	0,4947	88,3251
B	0,3231	0,6782	0,4891	87,7842
C	0,2934	0,7328	0,4949	84,6994
D	0,3347	0,737	0,5032	72,0701
E	0,3201	0,7754	0,5078	70,1420

Perhitungan porositas menggunakan rumus :

$$\text{Porositas (\%)} = \frac{W_w - W_d}{W_w - W_i} \times 100\%$$

Dimana :

P = Porositas Benda (%)

W<sub>w</sub> = Berat basah setelah cairan permukaan dikeringkan pada kertas filter (g)

W<sub>d</sub> = berat kering *bone graft* (g)

W<sub>i</sub> = berat *bone graft* setelah direndam (g)

- Sampel A =  $\frac{Ww-Wd}{Ww-Wi} \times 100\%$   
 $= \frac{0,4947 - 0,3502}{0,4947 - 0,6583} \times 100\%$   
 $= 88,3251 \%$

- Sampel B =  $\frac{Ww-Wd}{Ww-Wi} \times 100\%$   
 $= \frac{0,4891 - 0,3231}{0,4891 - 0,6782} \times 100\%$   
 $= 87,7842 \%$

- Sampel C =  $\frac{Ww-Wd}{Ww-Wi} \times 100\%$   
 $= \frac{0,4949 - 0,2934}{0,4949 - 0,7328} \times 100\%$   
 $= 84,6994 \%$

- Sampel D =  $\frac{Ww-Wd}{Ww-Wi} \times 100\%$   
 $= \frac{0,5032 - 0,3347}{0,5032 - 0,737} \times 100\%$   
 $= 72,0701 \%$

- Sampel E =  $\frac{Ww-Wd}{Ww-Wi} \times 100\%$   
 $= \frac{0,5078 - 0,3201}{0,5078 - 0,7754} \times 100\%$   
 $= 70,1420 \%$