

**EFEK VARIASI KOMPOSISI KOLAGEN - KITOSAN - GLISEROL  
TERHADAP KARAKTERISASI *SCAFFOLD* UNTUK *GINGIVAL  
RECESSION THERAPY***

**SKRIPSI**



**PUTRI NURFRIANA RAMADHANI**

**PROGRAM STUDI S1 TEKNIK BIOMEDIS**

**DEPARTEMEN FISIKA**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**2018**

**EFEK VARIASI KOMPOSISI KOLAGEN-KITOSAN-GLISEROL  
TERHADAP KARAKTERISASI *SCAFFOLD* UNTUK *GINGIVAL*  
*RECESSION THERAPY***

**SKRIPSI**

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Teknik Bidang  
Teknik Biomedis Pada Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga

Oleh:

**Putri Nurfriana Ramadhani**

**NIM. 081411731018**

**Disetujui Oleh:**

**Pembimbing I**



**Dr. Prihartini Widiyanti, drg., M. Kes**  
NIP. 197502222009122001

**Pembimbing II**



**Drs. Dioni Izak Rudyardjo, M.Si**  
NIP. 196802011993031004

**LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI**

Judul : Efek Variasi Komposisi Kolagen-Kitosan-Glisерol  
Terhadap Karakterisasi *Scaffold* untuk *Gingival  
Recession Therapy*

Penyusun : Putri Nurfriana Ramadhani

NIM : 081411731018

Pembimbing I : Dr. Prihartini Widiyanti, drg., M. Kes

Pembimbing II : Drs. Djoni Izak Rudyardjo, M.Si

Tanggal Seminar : 13 Juli 2018

Disetujui Oleh:

Pembimbing I



Dr. Prihartini Widiyanti, drg., M. Kes  
NIP. 197502222009122001

Pembimbing II



Drs. Djoni Izak Rudyardjo, M.Si  
NIP. 196802011993031004

Mengetahui,

Ketua Departemen Fisika  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Airlangga



Prof. Dr. Moh. Yasin, M.Si  
NIP. 196703121991021001

Ketua Program Studi S1-Teknik  
Biomedis Fakultas Sains dan  
Teknologi Universitas Airlangga



Dr. Khusnul Ain, S.T, M.Si  
NIP. 197207051997021001

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

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

**Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga**

**LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN**

Saya bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Putri Nurfriana Ramadhani

NIM : 081411731018

Program Studi : S1 Teknik Biomedis

Judul Skripsi : **EFEK VARIASI KOMPOSISI KOLAGEN-KITOSAN-**

**GLISEROL TERHADAP KARAKTERISASI *SCAFFOLD***

**UNTUK *GINGIVAL RECESSION THERAPY***

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa bagian atau keseluruhan isi Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk mendapat gelar akademis pada bidang studi dan/atau universitas lain dan tidak pernah dipublikasikan/ditulis oleh individu selain penyusun kecuali bila dituliskan dengan format kutipan dalam isi Skripsi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan yang berlaku di Universitas Airlangga. Pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar tanpa paksaan dari pihak manapun.

Surabaya, 13 Juli 2018

Yang membuat pernyataan



Putri Nurfriana Ramadhani

NIM.081411731018

Putri Nurfriana Ramadhani, 2018, **Efek Variasi Komposisi Kolagen-Kitosan-Gliserol Terhadap Karakterisasi Scaffold Untuk Gingival Recession Therapy**. Skripsi ini di bawah bimbingan Dr. Prihartini Widiyanti, drg., M. Kes dan Drs. Djoni Izak Rudyarjo, M.Si., Program Studi S1 Teknik biomedis, Departemen Fisika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

---

### ABSTRAK

Kasus *gingival recession* memiliki prevalensi yang tinggi, sekitar 88 % penduduk Amerika Serikat di satu atau lebih lokasi menderita *gingival recession*. Salah satu penanganan kasus *gingival recession* ialah menggunakan *scaffold* yang mencakup pengembangan rekayasa jaringan dan sel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui variasi komposisi terbaik *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol. Proses sintesis *scaffold* kolagen-kitosan-gliserol menggunakan metode *freeze dry* yang dapat membentuk pori pada *scaffold*. Karakterisasi juga dilakukan pada hasil sintesis *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol meliputi karakterisasi morfologi, tarik, sitotoksitas, *swelling*, degradasi, dan ketebalan. Hasil karakterisasi morfologi menunjukkan ukuran pori berkisar 26,68 – 191,7  $\mu\text{m}$  dengan ketebalan 0,51 – 0,65 mm dimana telah sesuai untuk penanganan kasus *gingival recession*. Hasil uji tarik menunjukkan variasi 9:1 memiliki nilai terendah yaitu 2,87 MPa dimana nilai ini mendekati nilai kuat tarik untuk periodontal yang memiliki nilai berkisar 2,75 – 5,13. Karakterisasi sitotoksitas menunjukkan nilai yang kurang sesuai dengan literatur, dimana sel hidup <50%. Hal ini dikarenakan kolagen dan kitosan memiliki pH yang asam sehingga sel tidak dapat berkembang biak. Karakterisasi degradasi menunjukkan semua variasi mengalami proses pengurangan berat dari hari kehari. Karakterisasi *swelling* semua sampel mengalami kesetimbangan pada menit ke-7. *Scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol memiliki potensi yang baik sebagai kandidat *scaffold* untuk terapi *gingival recession* berdasarkan karakterisasi morfologi (ketebalan dan struktur permukaan), kekuatan mekanik (kuat tarik), degradasi, dan derajat *swelling*.

**Kata Kunci:** *Scaffold*, Kolagen, Kitosan, Gliserol, *Gingival Recession*

Putri Nurfriana Ramadhani, 2018, **Effect Of Collagen-Chitosan-Glycerol Composition in Scaffold for Gingival Recession Therapy Characterisation**. Thesis, under guidance of Dr. Prihartini Widiyanti, drg., M.Kes and Drs. Djoni Izak Rudyarjo, M.Si., Biomedical Engineering, Physics Departement, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Surabaya.

---

### ABSTRACT

The case of gingival recession has a high prevalence, about 88% of the population of the United States in one or more locations suffering from gingival recession. One of the handling cases of gingival recession is to use scaffold that includes the development of tissue and cell engineering. This study aims to determine the best composition variation scaffold of collagen-chitosan with the addition of glycerol. The process of synthesis of collagen-chitosan-glycerol scaffold using freeze dry method that can form pores on the scaffold. Characterization was also carried out on the results of the synthesis of collagen-chitosan scaffold with the addition of glycerol include the morphological characterization, tensile, cytotoxicity, swelling, degradation, and thickness. The results of morphological characterization showed pore size ranged from 26.68 - 191.7  $\mu\text{m}$  with a thickness of 0.51 - 0.65 mm which was suitable for handling of gingival recession cases. The result of tensile test showed that the variation of 9: 1 has the lowest value that is 2.87 MPa where the value is close to tensile strength value for periodontal which has a value ranging from 2.75 to 5.13. The characterization of cytotoxicity shows a value that is less in line with the literature, where live cells <50%. This is because collagen and chitosan have an acidic pH so that the cells cannot reproduce. Characterization of degradation shows all the variations experienced a severe reduction process from day to day. The characterization of the swelling of all samples was equilibrated at 7 minute. Chitosan-collagen scaffold with the addition of glycerol has good potential as a scaffold candidate for gingival recession therapy based on morphological characterization (thickness and surface structure), the mechanical strength (tensile strength), degradation, and the degree of swelling.

**Keywords:** *Scaffold*, Collagen, Chitosan, Glycerol, *Gingival Recession*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi yang berjudul **“Efek Variasi Komposisi Kolagen-Kitosan-Glisерol Terhadap Karakterisasi Scaffold untuk Gingival Recesssion Therapy”**. Skripsi ini dikerjakan untuk memenuhi prasyarat menempuh mata kuliah skripsi yang merupakan salah satu mata kuliah wajib di Program Studi S1 Teknik Biomedis, Departemen Fisika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.

Diharapkan dengan adanya skripsi ini, penulis dapat melakukan penelitian dengan baik dan menghasilkan karya yang bermanfaat bagi dunia kedokteran. Skripsi ini dapat diselesaikan berkat kerja keras dan juga dukungan berbagai 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. Kedua orangtua dan keluarga penyusun yang telah memberikan motivasi, dukungan dan selalu mendoakan penyusun dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Yth. Bapak Dr. Moh. Yasin, M.Si selaku Ketua Departemen Fisika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
3. Yth. Bapak Dr. Khusnul Ain, S.T.M.Si. selaku Ketua Program Studi S1 Teknobiomedik Departemen Fisika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.
4. Yth. Ibu Dr. Prihartini Widiyanti, drg., M.Kes selaku dosen wali dan pembimbing I yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dalam penulisan skripsi, berupa saran, arahan dan waktunya kepada penyusun skripsi.
5. Yth. Bapak Drs. Djoni Izak Rudyardjo, M.Si selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dalam penulisan

skripsi, berupa saran, arahan dan waktunya kepada penyusun skripsi.

6. Yth. Bapak Drs. Siswanto, M.Si selaku penguji satu dan dosen biomaterial yang telah memberikan saran, koreksi, dan ilmunya kepada penulis.
7. Yth. Bapak Franky Chandra Satria Arisgraha, S.,T. M.T selaku dosen penguji dua yang telah memberikan arahan, saran, dan ilmunya kepada penulis.
8. Dosen-dosen S1 Teknik Biomedis yang telah mendidik serta memberikan wawasan ilmu selama penulis dalam bangku perkuliahan.
9. Ibu Endang dan Mas Rizky selaku bagian administrasi prodi S1 Teknik Biomedis yang selalu membantu urusan perkuliahan dan skripsi.
10. Ahmad Nurianto yang senantiasa mendoakan, memotivasi, serta merelakan waktunya dalam penulisan skripsi ini.
11. Teman-teman Penghuni Malam Laboratorium Teknik Biomedis yang telah memberikan dukungan doa, dan motivasi penyusun.
12. Teman-teman Keluarga Cemara selalu mendoakan serta merelakan waktunya untuk membantu menyelesaikan penulisan skripsi ini.
13. Teman-teman S1 Teknik Biomedis angkatan 2014 yang turut mendoakan dan memotivasi kepada penyusun dalam penulisan skripsi.

Penyusun menyadari bahwa naskah skripsi ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk mengembangkan penelitian skripsi ini.

Surabaya, 13 Juli 2018

Penyusun

Putri Nurfriana Ramadhani

**DAFTAR ISI**

LEMBAR JUDUL .....	i
LEMBAR PERNYATAAN .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI.....	iii
LEMBAR PEDOMAN PENGGUNAAN .....	iv
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN .....	v
ABSTRAK .....	vi
<i>ABSTRACT</i> .....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Batasan Masalah .....	6
1.4 Tujuan Penelitian .....	6
1.5 Manfaat Penelitian .....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Anatomi dan Fisiologi <i>Gingiva</i> .....	8
2.1.1 Bagian-bagian <i>Gingiva</i> .....	10
2.2 <i>Gingival Recession</i> .....	12
2.2.1 Jenis <i>Gingival Recession</i> .....	13
2.2.2 Gejala <i>Gingival Recession</i> .....	15
2.2.3 Etiologi Terjadinya <i>Gingival Recession</i> .....	16
2.2.4 Perawatan <i>Gingival Recession</i> .....	17
2.3 Sintesis Kolagen-Kitosan dengan Penambahan Gliserol.....	18
2.3.1 Kolagen .....	18
2.3.2 Kitosan .....	19
2.3.3 <i>Plasticizer</i> .....	20
2.3.3.1 Gliserol .....	21

2.4 <i>Scaffold</i> .....	22
2.5 Karakteristik <i>Scaffold</i> Kolagen-Kitosan dengan Penambahan Gliserol .....	23
2.5.1 Uji Morfologi (SEM) .....	23
2.5.2 Uji Tarik.....	25
2.5.3 Uji Sitotoksisitas dengan Metode MTT <i>Assay</i> .....	26
2.5.4 Uji <i>Swelling</i> .....	27
2.5.5 Uji Degradasi .....	28
2.5.6 Uji Ketebalan.....	28
BAB III METODE PENELITIAN.....	30
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	30
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	30
3.2.1 Bahan-bahan Penelitian .....	30
3.2.2 Alat Penelitian.....	30
3.2.2.1 Alat Sintesis.....	30
3.2.2.2 Alat Karakterisasi .....	31
3.3 Prosedur Penelitian .....	31
3.3.1 Pembuatan <i>Scaffold</i> Kolagen-Kitosan-Gliserol .....	31
3.3.1.1 Persiapan Larutan Kolagen .....	31
3.3.1.2 Persiapan Larutan Kitosan .....	32
3.3.1.3 Kolagen-Kitosan dengan Penambahan Gliserol.....	32
3.3.1.4 Pembuatan <i>Scaffold</i> Kolagen-Kitosan dengan Penambahan Gliserol .....	33
3.4 Karakteristik <i>Scaffold</i> Kolagen-Kitosan dengan Penambahan Gliserol .....	34
3.4.1 Uji SEM .....	34
3.4.2 Uji Tarik.....	35
3.4.3 Uji Sitotoksisitas .....	35
3.4.4 Uji <i>Swelling</i> .....	36
3.4.5 Uji Degradasi .....	37
3.4.6 Uji Ketebalan .....	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	40

4.1 Hasil Uji Morfolgi.....	41
4.2 Hasil Uji Tarik .....	43
4.3 Hasil Uji Sitotoksisitas.....	45
4.4 Hasil Uji <i>Swelling</i> .....	47
4.5 Hasil Uji Degradasi.....	48
4.6 Hasil Uji Ketebalan.....	50
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
5.1 Kesimpulan.....	51
5.2 Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA.....	53
LAMPIRAN .....	63

## DAFTAR TABEL

No.	Judul Tabel	Halaman
4.1	Hasil Uji Morfologi <i>Scaffold</i> Kolagen-Kitosan dengan Penambahan <i>Plasticizer</i> Gliserol.	42
4.2	Hasil Pengukuran Kuat Tarik Sampel <i>Scaffold</i> Kolagen – Kitosan dengan Penambahan <i>Plasticizer</i> Gliserol	44
4.3	Hasil Pengukuran Ketebalan Sampel <i>Scaffold</i> Kolagen – Kitosan dengan Penambahan <i>Plasticizer</i> Gliserol	50

## DAFTAR GAMBAR

No.	Judul Gambar	Halaman
2.1	Gingiva Normal	9
2.2	Bagian-bagian Gingiva	12
2.3	Kelainan <i>Gingival Recession</i>	13
2.4	Resesi Kelas I	14
2.5	Resesi Kelas II	14
2.6	Resesi Kelas III	14
2.7	Resesi Kelas IV	15
2.8	Struktur Kolagen	18
2.9	Struktur Kimia Kitosan	20
2.10	Struktur Kimia Gliserol	22
2.11	Skema <i>Scanning Electron Microscopy</i>	24
2.12	Gambaran Singkat Uji Tarik	25
2.13	Struktur kimia MTT menjadi Formazan	26
3.1	Proses pembuatan larutan kolagen dengan <i>stirrer</i>	31
3.2	Proses pembuatan larutan kitosan dengan <i>stirrer</i>	32
3.3	Sampel dengan Variasi Komposisi Kolagen-Kitosan dengan Penambahan <i>Plasticizer</i> Gliserol : (a) 6:4:2 ; (b) 7:3:2 ; (c) 8:2:2 ; (d) 9:1:2	33
3.4	Hasil Proses <i>Freeze Dry</i> pada Sampel <i>Scaffold</i> Kolagen-Kitosan dengan Penambahan <i>Plasticizer</i> Gliserol : (a) 6:4:2 ; (b) 7:3:2 ; (c) 8:2:2 ; (d) 9:1:2	33
3.5	Alat Uji Morfologi SEM	34
3.6	Alat untuk Mengukur Uji Kekuatan Tarik	35
3.7	ELISA <i>Reader</i> (kiri) dan <i>microwell plate</i> (kanan)	36
3.8	Proses Uji <i>Swelling</i>	37
3.9	Proses Uji Degradasi	37
3.10	Alat untuk Uji Ketebalan	38

3.11	Skema Penelitian	39
4.1	<i>Scaffold</i> Kolagen-Kitosan dengan Penambahan <i>Plasticizer</i> Gliserol setelah di <i>freeze dry</i> : (a) 6:4:2; (b) 7:3:2; (c) 8:2:2; (d) 9:1:2	40
4.2	Permukaan <i>scaffold</i> Kolagen-Kitosan dengan Penambahan <i>Plasticizer</i> Gliserol (perbesaran 300x): (a) 6:4:2; (b) 7:3:2; (c) 8:2:2; (d) 9:1:2	41
4.3	Grafik Hubungan Antara Variasi Ratio Kolagen-Kitosan-Gliserol terhadap Persentase Sel Hidup	45
4.4	Grafik Hubungan Antara % <i>Swelling</i> terhadap Lama Perendaman <i>Scaffold</i> Kolagen-Kitosan-Gliserol	47
4.5	Grafik Hubungan Antara % Degradasi terhadap Variasi Komposisi <i>Scaffold</i> Kolagen-Kitosan-Gliserol	49

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Masalah pada kesehatan gigi dan mulut merupakan salah satu masalah yang sering dialami oleh banyak orang. Kesehatan gigi dan mulut sangat mempengaruhi kualitas kehidupan, termasuk fungsi bicara, pengunyahan, dan rasa percaya diri (Kristiani, 2016). Aspek lingkungan, pengetahuan, pendidikan, dan kesadaran masyarakat merupakan penangan kesehatan gigi dalam pencegahan dan perawatan. Manfaat perawatan gigi dianggap tidak terlalu penting, padahal sangat vital dalam menunjang kesehatan dan penampilan (Pratiwi, 2007). Penyakit yang menyerang jaringan *gingival* menimbulkan dampak yang cukup serius, apabila tidak dilakukan perawatan yang tepat akan mengakibatkan kehilangan gigi dan berdampak pada penampilan seseorang. Salah satu penyakit pada jaringan *gingival* adalah *gingival recession*.

*Gingival recession* atau resesi gusi merupakan kondisi yang ditandai dengan perpindahan posisi tepi *gingiva* ke arah apikal dari *cemento enamel junction* (CEJ), karena hilangnya jaringan perlekatan tulang alveolar yang mengakibatkan terbukanya permukaan akar gigi (Cardaropoli, D and Giuseppe, 2009). Resesi gusi ini dapat bersifat lokal maupun menyeluruh, tergantung dari faktor penyebabnya. Resesi terjadi ketika tepi jaringan *gingiva* atau margin *gingiva* bergerak menjauhi mahkota gigi. Resesi gusi akan menyebabkan masalah pada estetika terutama jika terjadi pada gigi anterior karena kerusakan yang terus berlanjut. Resesi gusi selain menyebabkan masalah pada estetika, juga dapat menyebabkan hipersensitivitas dentin, karies akar, dan abrasi daerah servik serta erosi karena tereksposnya permukaan akar ke lingkungan mulut. Resesi gusi juga dapat disebabkan oleh penyakit periodontal, akumulasi, pembengkakan, *flossing* yang tidak tepat, tarikan frenum, trauma oklusal dan teknik menyikat gigi yang tidak benar ( Chrysanthakopoulos, N. A. , 2013).

Menurut data dari Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2013, prevalensi nasional masalah gigi dan mulut adalah 25,9%, diantaranya sebanyak 14 provinsi mempunyai prevalensi masalah gigi dan mulut di atas angka nasional yaitu DKI Jakarta 29,1%, Jawa Barat 28%, Yogyakarta 32,1%, Jawa Timur 27,2%, Kalimantan Selatan 36,1%, Sulawesi Utara 31,6%, Sulawesi Tengah 35,6%, Sulawesi Selatan 36,2%, Sulawesi Tenggara 28,6%, Gorontalo 30,1%, Sulawesi Barat 32,2%, Maluku 27,2%, Maluku Utara 26,9%. Menurut Survei Nasional Amerika Serikat pada usia 65 tahun lebih (lansia) sebesar 88% dan usia 18-64 (orang dewasa) sebesar 50% yang mengalami resesi gingiva di satu atau lebih lokasi, bertambahnya usia dapat meningkatkan frekuensi resesi yang progresif. Tingkat keparahan *gingival recession* dapat ditentukan dengan teknik pengukuran menggunakan *probe periodontal WHO*. Pengukuran ini dilakukan dengan menghitung kedalaman resesi atau *Recession Depth* (RD), yaitu jarak dari margin gingiva terhadap *cemento enamel junction* dan *mucogingival junction* (Schied dan Weiss, 2013).

Perkembangan biomaterial di bidang kedokteran gigi dibagi dalam biomaterial sintesis dan biomaterial *tissue engineering* (Theodore M *et al.*, 2006). Biomaterial rekayasa jaringan meliputi pengembangan *scaffold*, teknik jaringan, dan sel. Pada dekade terakhir, teknik regenerasi jaringan mulai berkembang menggunakan *scaffold*. *Tissue engineering* bertujuan untuk memperbaiki, memulihkan, atau menumbuhkan jaringan fungsional menggunakan biomaterial, sel, dan faktor biologis sendiri atau kombinasi ketiganya. *Scaffold* merupakan material *biodegradable* berpori, biokompatibel yang berfungsi sebagai pendukung struktural sel dan menjadi matriks ekstraseluler selama proses regenerasi dan perkembangan jaringan secara alami (Wongwitwichot *et al.*, 2010). Jaringan berpori dan interkoneksi pori yang terbuka pada *scaffold* sangat penting untuk nutrisi sel, proliferasi, dan migrasi untuk vaskularisasi jaringan dan pembentukan jaringan baru (Loh, Q.L, and Choong, C. 2013).

Berdasarkan permasalahan yang ada, penanganan kasus resesi gusi dengan tindakan operasi cukup tinggi. Tindakan operasi dapat menimbulkan trauma secara psikis pada pasien. Kemungkinan terjadinya lagi resesi gingiva cukup

tinggi karena individu kurang menjaga oral yang higienis sehingga permukaan akar gigi yang semula tertutup akan terbuka kembali (Krismariono A, 2014). Prognosis untuk pasien penyakit gingiva dapat terkait dengan plak gigi, namun hal yang baik dapat dilakukan dengan menghilangkan semua iritasi lokal serta kontur *gingiva* yang diperlihara secara baik dan mempertahankan kebersihan oral yang higienis (Carranza *et al*, 2012). Maka perlu dilakukan pengembangan material alam atau material sintesis yang sesuai sebagai alternatif penanganan kasus resesi gingiva. Sebuah bukti telah menunjukkan bahwa material alam dapat menyerupai ekstraseluler matriks (ECM) dan memiliki biokompatibilitas, biodegradabilitas, dan fungsi biologis yang dapat membuat mereka sesuai untuk aplikasi rekayasa jaringan (He, Y., & Lu, F. 2016; Y Liu *et al*, 2015; Y Li *et al*, 2015; E Taghiabadi *et al*, 2014; dan E Hosseinzadeh *et al*, 2014). Salah satu material yang dapat digunakan sebagai bahan implan untuk kasus resesi gusi adalah kolagen.

Kolagen merupakan polimer alami yang memiliki tiga-perempat dari berat kering kulit serta komponen paling lazim pada matriks ekstraselular, tulang, tendon, ligament, dan tulang rawan jaringan mamalia (Hasan *et al*, 2015). Kolagen mempunyai kemampuan sebagai *scaffold* biologi untuk pertumbuhan sel endotel dan sel progenitor dari *periodontal ligament*. Pada *scaffold* berbasis kolagen telah banyak digunakan dalam terapi periodontal dan implant sebagai penghalang untuk mencegah migrasi sel epitel dan mendorong pelepasan kembali oleh sel dengan potensi regeneratif (Khan, R., & Khan, M, 2013). Namun, *scaffold* kolagen sering kehilangan bentuk dan ukuran karena degradasi yang cepat ketika kontak langsung dengan cairan tubuh. Kolagen merupakan polimer alam yang cenderung mudah terdegradasi karena memiliki asam amino yang tinggi salah satunya prolin yang rawan bereaksi bila terkena termal maka terjadi denaturasi spontan jika terkena panas tubuh dan tidak terbentuk *triple helix* (Phang *et al.*, 2009). Pada pembuatan *scaffold* bagi terapi resesi gingiva, kolagen akan disintesis bersama kitosan.

Kitosan merupakan material yang memiliki laju degradasi yang lebih lama dibandingkan dengan kolagen, karena halangan sterik atau *steric hindrance* akan membuat posisi antar molekul tersebut semakin rapat. Kitosan merupakan sebuah

kopolimer dari 2-glukosamin dan N-asetil-2 glukosamin, senyawa turunan dari kitin yang bersifat ramah lingkungan, diantaranya biodegradabel, biokompatibel, biofungsional dan bioadsorbabel (Chem, Chang, Chen, & Zhang, 2011). Kitosan termasuk polimer alami yang mudah menjadi gel pada lingkungan dengan pH rendah namun memiliki sifat rapuh dan mudah robek. Kitosan memiliki potensi tinggi dalam aplikasi *tissue engineering*. Pengaplikasian bahan kitosan pada *scaffolds* untuk periodontal yaitu agar hasil dari sifat mekanik *scaffold* meningkat. Salah satu manfaat kitosan terpenting adalah bioaktivitas yang tinggi, yang membuat bahan ini sangat menarik untuk dikembangkan ke aplikasi kedokteran gigi (M. Kmiec, L. Pighinelli, T, Mf *et al*, 2017).

*Plasticizer* merupakan bahan organik dengan berat molekul rendah yang ditambahkan pada pembuatan *scaffold* dan memiliki pengaruh cukup besar dalam pembuatan *scaffold*, karena memiliki fungsi yakni meningkatkan fleksibilitas dan ekstensibilitas *scaffold*. Cara kerja *plasticizer* yaitu dengan melekatkannya diantara rantai polimer. Gliserol merupakan zat pemlastis yang ekonomis, sumbernya mudah diperoleh, dapat diperbaharui, serta ramah lingkungan karena mudah terdegradasi oleh alam (Pagliaro M dan Rossi M, 2008).

Kandidat membran pada *gingival recession* ini berbentuk *scaffold*. *Scaffold* merupakan *template* 3D yang membantu percepatan pembentukan jaringan baru, hal ini disebabkan bahan yang digunakan kolagen dan kitosan sesuai dengan sifat jaringan tubuh (Martinez, Blanco, Davidenko, & Cameron, 2015). Kolagen merupakan polimer alami yang terdapat pada matriks ekstraselular (Hasan *et al*, 2015). Sedangkan, kitosan memiliki kemampuan untuk menstimulasi faktor pertumbuhan pada jaringan (Sivashankari dan Prabakaran, 2016). Kolagen dan kitosan memiliki potensi yang besar dalam merancang berbagai bahan bioaktif untuk keperluan biomedis yang berbeda (Croisier dan Jérôme, 2013; Szot, Buchanan, Freeman, dan Rylander, 2011).

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Rosdiani, A. F *et al* tahun 2017 dalam pembuatan *scaffold* kolagen-kitosan-gliserol pada hasil uji mekanik didapatkan hasil sebesar 2,36 Nmm<sup>-2</sup> pada aplikasi periodontal ligament, hasil tersebut belum memenuhi untuk standar uji mekanik pada *buccal attached*

*gingiva*. Sedangkan, pada penelitian yang dilakukan oleh Goktas, Dmytryk, & McFetridge tahun 2011 menunjukkan hasil kekuatan tarik sebesar 2,75 – 5,13 MPa untuk aplikasi daerah *buccal attached gingiva*. Maka dari itu perlu penambahan konsentrasi kolagen yang diharapkan dapat berkontribusi untuk meningkatkan hasil kekuatan tarik. Kolagen di dalam jaringan biologis diperkuat dengan pembentukan ikatan silang asli yang memberikan ketahanan fibrilar terhadap degradasi enzimatik serta sifat tarik yang lebih besar. Penguatan fibril kolagen oleh agen pengikat silang dapat meningkatkan sifat mekanik dan mengurangi degradasi enzimatik yang diaplikasikan dalam kedokteran gigi restoratif (Bedran-Russo, A. K *et al*, 2007). Dalam penelitian ini dilakukan karakterisasi pada uji hasil morfologi (uji SEM) untuk ketebalan *scaffold* harus memiliki ketebalan 0-2 mm (Manson dan Eley, 2004). Ukuran pori yang diperlukan agar dapat menjadi *scaffold* pada kasus periodontal adalah dengan rentang 63-150  $\mu\text{m}$  (O'Brien *et al.*, 2005). Uji sitotoksitas (uji MTT-Assay) harus memiliki presentasi sel yang mampu bertahan hidup lebih dari 50% (Khoswanto, Arjini, dan Soesilawati, 2008). Uji kemampuan absorpsi (uji *swelling*) dapat diukur dengan berat kering sampel awal dan berat basah sampel akhir, dan dinyatakan dalam bentuk persen (%) (Angulo dan Sobral, 2016). Uji ketahanan terhadap PBS (uji degradasi) dilakukan untuk mengetahui berapa lama sampel akan terdegradasi di dalam larutan selama rentang waktu 7-14 hari (Soheilifar *et al.*, 2015).

Berdasarkan latar belakang di atas, diperlukan penelitian tentang *scaffold* pada peningkatan variasi kolagen - kitosan disekitar *range* 1-10 gram yaitu pada rasio volume 6:4, 7:3, 8:2, dan 9:1 dengan penambahan gliserol sebanyak 2 ml untuk menghasilkan *scaffold* periodontal dengan kelainan resesi gingiva (Rosdiani A F *et al.*, 2017). Karakterisasi yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji struktur pori dari penampang melintang kandidat membran *scaffold* dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM), uji mekanik untuk mengetahui kuat tarik (*tensile strength*) yang merupakan kemuluran maksimum yang dapat dicapai membran sebelum terputus atau rusak, uji sitotoksitas dari *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol dengan metode MTT *assay*,

uji *swelling* untuk mengetahui daya serap dari *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol, uji degradasi dilakukan untuk mengetahui berapa lama sampel akan terurai di dalam tubuh pada *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol, serta uji ketebalan untuk mengetahui ketebalan *scaffold* yang sesuai dengan aplikasi *gingiva*.

### 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana karakteristik sifat mekanik (kuat tarik), sifat fisik (tekstur morfologi), sifat biokompatibilitas (uji sitotoksitas), absorpsi (uji *swelling*), perubahan bentuk (uji degradasi), serta uji ketebalan terhadap variasi kolagen-kitosan dan penambahan *plasticizer* gliserol pada kandidat *scaffold* periodontal untuk terapi *gingival recession*?
2. Berapa variasi komposisi terbaik kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol pada kandidat *scaffold* periodontal untuk terapi *gingival recession*?

### 1.3 Batasan Masalah

1. Penggunaan Kolagen berasal dari produk komersial Biochitosan Indonesia.
2. Penggunaan Kitosan berasal dari produk Sigma-Aldrich.
3. Variasi komposisi kolagen-kitosan-gliserol dalam satuan ml yaitu 6:4:2, 7:3:2, 8:2:2 dan 9:1:2
4. Karakteristik yang dilakukan meliputi uji SEM, uji tarik, uji sitotoksitas, uji *swelling*, uji degradasi dan uji ketebalan.

### 1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh variasi konsentrasi kolagen-kitosan dan penambahan *plasticizer* gliserol terhadap karakteristik fisik (tekstur morfologi dan ketebalan), mengetahui sifat biokompatibilitas melalui uji sitotoksitas, absorpsi (uji *swelling*) serta proses degradasi (uji degradasi) sebagai kandidat *scaffold* periodontal untuk terapi *gingival recession*.

2. Mengetahui variasi komposisi terbaik pada kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol sebagai kandidat *scaffold* periodontal untuk terapi *gingival recession*.

### 1.5 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritik

Memberikan acuan teori pada peran kolagen terhadap karakteristik fisik (tekstur morfologi dan ketebalan), mekanik (kuat tarik), mengetahui sifat biokompatibilitas melalui uji sitotoksitas kandidat *scaffold*, kemampuan *swelling*, serta degradasi untuk terapi *gingival recession* variasi konsentrasi kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol.

2. Manfaat Praktis

Menghasilkan *scaffold* untuk terapi *gingival recession* yang dapat memenuhi standar aplikasi klinis.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Anatomi dan Fisiologi *Gingiva*

*Gingiva* (gusi) adalah bagian dari *masticatory mucosa* yang menutupi proses alveolar dan mengelilingi bagian serviks gigi. *Gingiva* merupakan bagian dari aparatus pendukung gigi, *periodonsium*, dan membentuk hubungan dengan gigi. *Gingiva* merupakan bagian terluar dari jaringan periodontal yang nampak klinis (Herijulianti, 2009).

*Gingiva* dibagi menjadi dua daerah yaitu *free gingival* dan *attached gingiva*. *Gingiva* terdiri dari lapisan epitel dan lapisan jaringan ikat yang disebut *lamina propia* (Carranza *et al*, 2012). Lebar tepi *gingiva* 1-2 mm membentuk *cuff* di sekitar leher gigi serta dinding eksternal pada leher *gingiva* memiliki kedalaman 0-2 mm. Antara gigi geligi dan tepi *gingiva* terdapat papila *gingiva* yang berbentuk konus, permukaan labialnya seringkali mempunyai *groove* yang disebut *'sluice-way'*. Papila mengisi ruang pada apikal embrasur interdental sampai titik kontak dan bentuk fasiolingualnya sesuai dengan kurvatura dari daerah *cement-enamel junction* untuk membentuk *col* interdental (Carranza *et al*, 2012).

*Gingiva* bebas berwarna merah muda, memiliki permukaan yang kusam dan konsistensi yang kuat. *Gingiva* bebas terdiri dari jaringan *gingiva* pada aspek vestibular dan lingual / palatal gigi, dan *gingiva* interdental atau papilla interdental. Pada sisi vestibular dan lingual gigi, *gingiva* bebas memanjang dari margin *gingiva* dalam arah apikal ke alur *gingiva* bebas yang diposisikan pada tingkat yang sesuai dengan *cement-enamel junction* (CEJ). *Gingiva* cekat berada dalam arah apikal yang dibatasi oleh *mucogingival junction* (MGJ). Pada *mucogingival junction*, *mucoperiosteum* terpisah sehingga mukosa alveolar terpisah dari periosteum melalui perantara jaringan ikat longgar yang sangat vaskular. Jadi mukosa alveolar umumnya berwarna merah tua, berbeda dengan daerah *attached gingiva* yang berwarna merah muda (Carranza, 2012). Bentuk

gingiva interdental atau papilla interdental ditentukan oleh hubungan kontak antara gigi, lebar permukaan gigi, dan *cement enamel junction*. Di daerah anterior gigi, papilla interdental berbentuk piramid pada daerah molar. Permukaan tepi *gingiva* umumnya halus berbeda dengan daerah *attached gingiva*, yang dibatasi dengan *free gingival groove*. *Gingiva* cekat atau mukosa fungsional meluas dari *groove gingiva* bebas ke *mucogingival junction* dimana akan bertemu dengan mukosa alveolar. Mukosa alveolar adalah suatu *mucoperiosteum* yang melekat erat dengan tulang alveolar di bawahnya (Carranza *et al*, 2012).

*Gingiva* yang sehat atau normal tampak pada Gambar 2.1 yaitu berwarna merah jambu, tepinya seperti pisau dan *scallop* agar sesuai dengan kontur gigi geligi. Warna *gingiva* dapat dipengaruhi oleh jumlah pigmen melanin pada epitelium, derajat keratinisasi epitelium dan vaskularisasi serta sifat fibrosa dari jaringan ikat di bawahnya (Carranza *et al*, 2012).



**Gambar 2.1** *Gingiva* Normal (Carranza *et al*, 2012)

*Gingiva* mempunyai banyak suplai darah dari tiga sumber pembuluh suprapariosteal dan pembuluh ligamen periodontal serta pembuluh alveolar yang keluar dari puncak tulang alveolar. Tiga sumber suplai darah ke *gingiva* adalah sebagai berikut (Carranza *et al*, 2012) :

1. Arteriol suprapariosteal di sepanjang permukaan wajah dan lingual tulang alveolar, dimana kapiler meyebar di sepanjang epitel sulkular dan diantara *rete peg* dari permukaan *gingiva* eksternal.
2. Pembuluh ligamen periodontal, yang meluas ke dalam *gingiva* dan anastomosis dengan kapiler di daerah sulkus.
3. Arteriol, yang muncul dari puncak *interdental septa* dan meluas secara sejajar dengan puncak tulang hingga anastomosis dengan pembuluh darah pada ligamen periodontal, dengan kapiler di daerah *crevicular gingiva* dan pembuluh darah yang melintang diatas puncak alveolar. Peredaran saraf pada periodontal mengikuti pola yang sama dengan distribusi peredaran darah.

Pembuluh ini saling bertautan pada *gingiva* untuk membentuk lingkaran kapiler pada papila jaringan *gingiva* antara *rete peg* epitelial. Drainase limfatik dimulai pada papila jaringan ikat dan berdrainase ke nodus limfa regional dari *gingiva* mandibula ke nodus servikal, submandibular dan submental dari *gingiva* maksila ke nodus limfa servikal bagian dalam (Carranza *et al*, 2012).

### **2.1.1 Bagian *Gingiva***

*Gingiva* dibagi secara anatomi menjadi daerah *marginal*, *attached*, dan *interdental*. Meskipun setiap jenis *gingiva* menunjukkan variasi diferensiasi, histologi, dan ketebalan yang cukup besar sesuai fungsinya secara tepat terhadap kerusakan mekanis dan mikroba. Menurut Carranza (2012) bagian-bagian *gingiva* dapat dibagi menjadi:

#### *1. Marginal Gingiva*

*Marginal gingiva* merupakan bagian ujung atau batas *gingiva* yang mengelilingi gigi dan terletak di labial / bukal dan lingual / palatinal gigi, serta memiliki lebar sekitar satu mm dari dinding jaringan lunak sulkus

gingiva. *Marginal gingiva* dapat dipisahkan dari permukaan gigi dengan *probe periodontal*.

## 2. *Gingiva Sulcus*

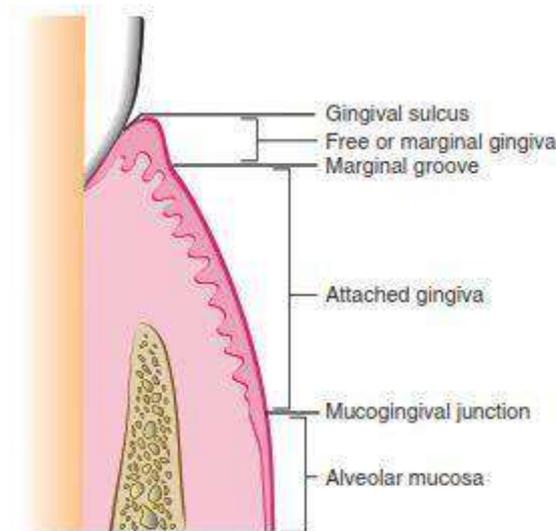
Sulkus gingiva merupakan celah dangkal atau ruang di sekitar gigi yang dibatasi oleh permukaan gigi di satu sisi dan epitel yang melapisi margin bebas gingiva di sisi lain. Sulkus gingiva berbentuk V dan memiliki kedalaman 0 mm atau mendekati 0 mm. Kedalaman sulkus pada pengamatan histologis sedalam 1,5 – 1,8 mm. Sedangkan kedalaman klinis diukur dengan alat probe pada manusia adalah 2 – 3 mm.

## 3. *Attached Gingiva*

Perlekatan *gingiva* atau *attached gingiva* meluas dari alur *gingiva* bebas ke pertautan mukogingiva yang akan bertemu dengan mukosa alveolar. Permukaan *attached gingiva* berwarna merah muda, kaku, lenting, dan melekat erat pada periosteum tulang alveolar. *Gingival attachment* yang melekat pada *cement* disebut *gingival cemental*, sedangkan *gingival attachment* yang melekat pada *processus alveolaris* disebut *gingival alveolar*. Lebar *attached gingiva* bervariasi antara 1 – 9 mm. Paling lebar pada daerah gigi insisivus (3,5 – 4,5 mm pada maksila dan 3,3 – 3,9 mm pada mandibula), dan paling sempit pada daerah segmen posterior (1,9 mm pada gigi premolar maksila dan 1,8 mm pada gigi premolar pertama rahang bawah).

## 4. *Interdental gingiva*

*Interdental gingiva* atau gingiva interdental merupakan bagian gingiva yang mengisi *gingival embrasure* yaitu ruang interproksimal di bawah area kontak gigi. *Interdental gingiva* berbentuk piramida yang terlihat pada gigi geligi depan dan berbentuk lembah (*col*) yang terlihat pada gigi geligi belakang. Pada papilla interdental yang berbentuk lembah terdapat dua papilla (pada sisi vestibular dan sisi oral) yang keduanya dihubungkan oleh satu daerah disebut *interdental col* yang mengikuti bentuk kontak proksimal. Apabila terdapat diastema diantara dua gigi yang bertetangga, maka papilla interdental tidak dijumpai.



**Gambar 2.2** Bagian-bagian *Gingiva* (Carranza *et al*, 2012)

## 2.2 *Gingival Recession*

*Gingival recession* atau resesi gusi merupakan kelainan yang terjadi pada permukaan akar gigi yang terbuka akibat perpindahan *gingival margin* dan *junction epithelium* ke apikal. Secara klinis ditandai dengan *gingival margin* berada pada apikal dari *cement-enamel-junction* (CEJ). Kondisi ini dapat terjadi pada satu maupun sekelompok gigi, baik pada rahang atas maupun rahang bawah. Meskipun jarang berakibat pada hilangnya gigi, resesi jaringan marginal dikaitkan dengan sensitivitas panas dan taktil, keluhan estetika, dan kecenderungan karies akar. Tingkat keparahan gingiva semakin meningkat seiring dengan bertambahnya umur, dan jenis kelamin yang mempunyai resiko yang sama (Amran AG *et al*, 2011). Resesi gingiva meningkat seiring bertambahnya usia, kejadian ini sangat bervariasi dari 8 % pada anak sampai 100% setelah usia 50 tahun. Hal ini menyebabkan beberapa peneliti menganggap bahwa resesi merupakan proses fisiologis yang terkait dengan penuan (Carranza *et al*, 2012).

Pergeseran apikal secara bertahap kemungkinan besar merupakan akibat dari efek kumulatif keterlibatan patologis ringan dan trauma ringan yang berulang-berulang pada gingiva. Namun, pada beberapa populasi tanpa melakukan perawatan gigi, resesi dapat timbul karena meningkatnya penyakit periodontal. Faktor etiologi yang terlibat dalam resesi gingiva adalah teknik

menyikat gigi yang salah (abrasi gingiva), malposisi gigi, gesekan dari jaringan lunak (ablasi gingiva), peradangan gingiva, kelekatan frenum abnormal, dan kedokteran gigi iatrogenic (Carranza *et al*, 2012). Kerentanan terhadap resesi juga dipengaruhi oleh posisi gigi di lengkungan, sudut akar-tulang, dan kelengkungan mesiodistal permukaan gigi.



**Gambar 2.3** Kelainan *Gingival Recession* (Kumar & Masamatti, 2013)

### 2.2.1 Jenis *Gingival Recession*

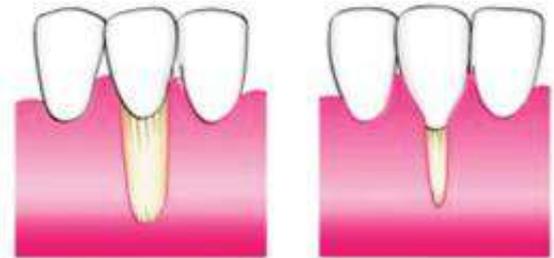
Miller (1985) mengusulkan klasifikasi kerusakan resesi yang berdasarkan tinggi papilla interproksimal dan tulang interdental yang berdekatan dengan daerah yang rusak serta hubungan margin gingiva ke persimpangan mukogingiva (Alghamdi *et al*, 2009). Terdapat beberapa literatur mengenai klasifikasi resesi gingiva, tetapi klasifikasi yang paling umum digunakan adalah klasifikasi menurut Miller (1985) yang berdasarkan evaluasi jaringan gingiva dan periodontal menjadi 4 kelas yakni sebagai berikut (Jain Sanjeev, Kaur Harjit, & Aggarwal Ridhi, 2017 dan G Prato Pipi, 2011):

1. Kelas I: resesi pada *marginal gingiva* yang belum meluas sampai *mucogingival junction* dan belum terjadi kehilangan jaringan tulang maupun jaringan lunak pada daerah interdental.



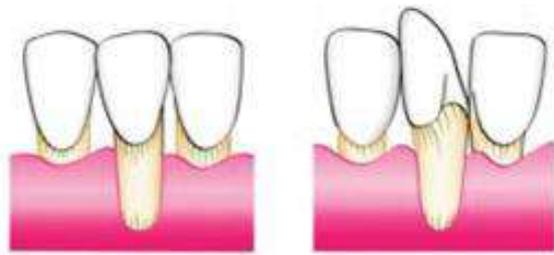
**Gambar 2.4** Resesi Kelas I

2. Kelas II: resesi pada *marginal gingiva* yang telah meluas sampai *mucogingival junction* dan belum terjadi kehilangan jaringan tulang maupun jaringan lunak pada daerah interdental.



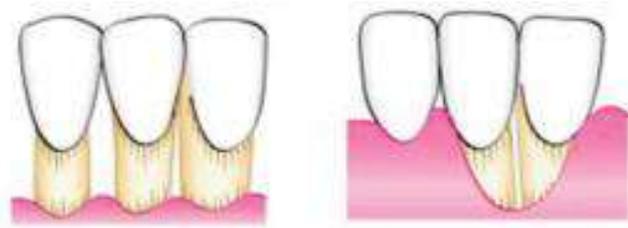
**Gambar 2.5** Resesi Kelas II

3. Kelas III: resesi pada *marginal gingiva* telah meluas sampai *mucogingival junction* dan sudah terjadi kehilangan tulang maupun jaringan lunak pada daerah interdental, serta disertai malposisi gigi maupun tidak.



**Gambar 2.6** Resesi Kelas III

4. Kelas IV: resesi pada *marginal gingiva* telah meluas sampai *mucogingival junction* dan telah terjadi kerusakan tulang dan jaringan lunak yang parah pada daerah interdental, dan disertai malposisi gigi yang parah.



**Gambar 2.7** Resesi Kelas IV

### 2.2.2 Gejala *Gingival Recession*

Menurut Suryono (2014) resesi gingiva dapat ditandai dengan gejala sebagai berikut:

1. Bagian akar yang terbuka

Sebagai permukaan akar yang terpapar oleh permukaan mulut akan berisiko timbulnya karies akar. Bagian akar yang terlihat jelas biasanya berwarna lebih gelap dari mahkota gigi sehingga dapat mengurangi penampilan gigi. Lesi ini dapat terjadi pada semua permukaan tetapi sebagian besar ditemukan pada permukaan bukal. Faktor resiko lain untuk karies akar yaitu tingginya jumlah streptokokus mutans dan labtobacilli pada plak gigi dan air liur, frekuensi gula yang tinggi, jumlah plak dan umur yang tinggi.

2. Gigi yang tampak lebih panjang

Keprihatinan utama pasien yang mengalami resesi terutama pada daerah anterior yang disebabkan oleh penampilan gigi karena gigi yang tampak lebih panjang. Garis bibir yang tinggi memperhatikan gingiva ketika berbicara dan tersenyum akan membuat resesi lebih jelas. Kontur yang tidak merata dari jaringan gingiva dapat menimbulkan penampilan yang tidak estetika.

3. Rasa sakit.

Gejala yang umum terkait dengan resesi adalah hipersensitifitas dentin. Resesi akan membuka leher dentin namu kofaktor lainnya diminta untuk memunculkan tubulus dentin paten yang bertanggung jawab atas rasa sakit yang dialami. Hipersensitivitas dentin mungkin merupakan perhatian

utama pasien yang diakibatkan oleh resesi. Rasa sakit biasanya muncul dengan durasi yang lama atau singkat terkait dengan stimulus yang diberikan seperti dingin. Meskipun rasa sakit dapat disebabkan oleh penerapan panas, rangsangan osmotik atau kimia. Resesi gingiva meningkat seiring bertambahnya usia dan hipersensitivitas dentin tampaknya mencapai antara usia 25 - 39. Hal ini terkait dengan perubahan usia di dalam dentin seperti peningkatan ketebalan dentin atau oklusi tubulus yang mengurangi jumlah tubulus paten meskipun terjadi peningkatan akar yang terbuka.

### **2.2.3 Etiologi Terjadinya *Gingival Recession***

Etiologi pada resesi gingiva dapat disebabkan oleh faktor-faktor sebagai berikut (Pradeep K *et al*, 2012):

1. Kalkulus. Perkumpulan antara resesi gingiva dengan kalkulus supragingival dan subgingival tercatat terjadi karena akses yang tidak memadai ke perawatan gigi profilaksis.
2. Menyikat gigi. Menunjukkan bahwa penggunaan sikat gigi keras dikaitkan dengan resesi.
3. *High Frenal Attachment*. Hal ini dapat menghambat pemindahan plak dengan menyebabkan tarik pada gingival marginal.
4. Posisi gigi. Gigi yang mendekati garis mukogingiva dapat menunjukkan resesi gingiva lokal karena terdapat jaringan keratin yang sangat sedikit atau tidak sama sekali.
5. Gerakan gigi oleh kekuatan orthodontik. Pergerakan gigi seperti prolinasi gigi seri yang berlebihan dan perluasan ekspansi lengkung dikaitkan dengan risiko resesi gingiva yang lebih besar.
6. Mencetak gigi palsu yang dirancang dengan benar. Gigi palsu sebagian yang telah dipelihara atau di desain dapat menyebabkan trauma gingiva dan mengakibatkan retensi plak yang berpotensi untuk menimbulkan resesi gingiva.

7. Merokok. Orang-orang yang merokok memiliki resesi gingiva lebih banyak daripada yang bukan perokok. lokasi resesi ditemukan di permukaan buccal geraham pada rahang atas, gigi premolar, dan gigi insisivus sentral bawah pada rahang bawah.
8. Pemulihan. Margin pemulihan pada subgingival meningkatkan akumulasi plak, peradangan gingiva, dan kehilangan tulang alveolar.
9. Bahan kimia. Aplikasi kokain topikal dapat menyebabkan ulseransi gingival dan erosi.

#### **2.2.4 Perawatan *Gingival Recession***

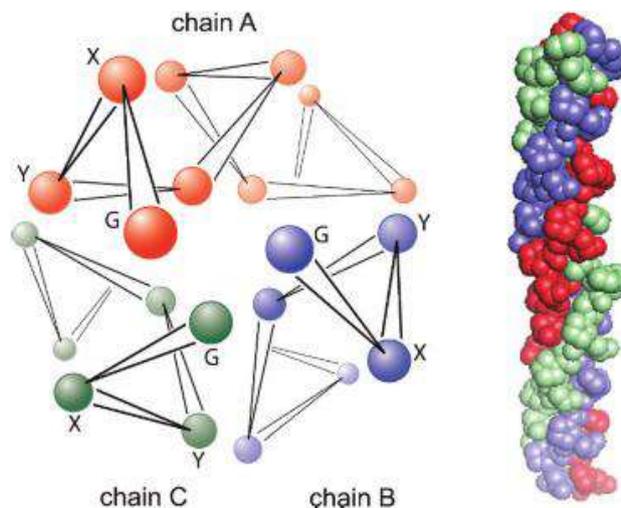
Untuk perawatan awal yang dilakukan yaitu *scaling*, *root planning* dan evaluasi tingkat kebersihan rongga mulut serta dilakukan DHE. Perawatan pada penderita resesi gusi dibedakan menjadi dua yaitu perawatan bedah dan perawatan non-bedah. Perawatan bedah dapat dilakukan dengan *soft tissue graft* atau bedah *flap periodontal (coronally, apically atau laterally)*. Sedangkan perawatan non-bedah dapat dilakukan dengan pembuatan gingiva tiruan. Bahan gingiva tiruan adalah *soft liner (chairside vinyl polysiloxane resilient denture liner)*. Bahan tersebut digunakan karena memiliki sifat biokompatibilitas dengan jaringan yang baik serta warna dan teksturnya mirip dengan gingiva asli. Meskipun gingiva tiruan ini harus dilepas pada saat beraktivitas seperti makan dan membersihkan rongga mulut (Ulfah N dan Augustina E, 2010). Gingiva tiruan memiliki kekurangan yakni tidak dapat menutupi permukaan akar bagian palatal/lingual, sehingga melalui permukaan ini masih dimungkinkan terjadinya pengaruh rangsang dari luar terhadap saraf gigi. Namun pengaruh ini masih bersifat minimal, karena sebagian besar permukaan akar telah tertutup oleh gingiva tiruan. Masing-masing perawatan memiliki kelebihan dan kekurangan untuk mengatasi masalah resesi gingiva (Krismariono, 2014).

## 2.3 Sintesis Kolagen-Kitosan dengan Penambahan Gliserol

### 2.3.1 Kolagen

Kolagen adalah protein struktural yang melimpah di semua hewan. Pada manusia, kolagen dalam tubuh manusia berjumlah sepertiga dari total protein dalam tubuh, menyumbang sepertiga dari berat kering kulit, dan merupakan komponen umum sebagian besar matriks ekstraseluler (Shoulder dan Raines, 2009). Kolagen memiliki potensi sebagai biomaterial untuk teknik jaringan, biokompatibilitas, porositas tinggi, fasilitas untuk kombinasi dengan bahan lainnya, pegelolahan mudah, hidrofilisitas, antigenisitas rendah, dan dapat diserap dalam tubuh (Glowacki dan Mizuno, 2008).

Kolagen merupakan protein yang unik karena komposisi asam aminonya yang tinggi yaitu kandungan akan asam amino siklik, prolin dan hidroksiprolin, disamping sejumlah besar glisin dan alanin yang merupakan asam amino nonpolar gugus pendek (Ichsan, 2012). Kolagen memiliki struktur yang terdiri dari karbon, hidrogen, gugus hidroksi (OH), gugus karbonil (C=O), gugus C≡N, dan gugus amina (N-H) (Marsaid, 2010).



**Gambar 2.8** Struktur Kolagen (Fratzl, 2008)

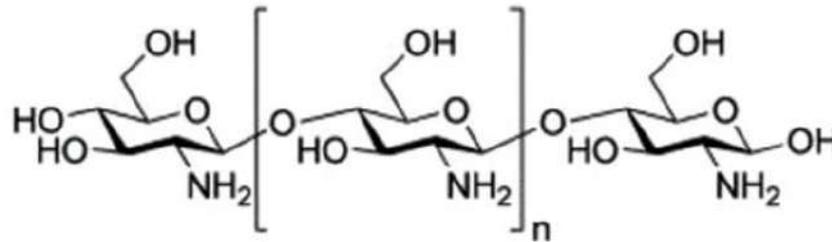
Kolagen memiliki tiga rantai polipeptida ( $\alpha$ -chains), setiap bagian asam amino terdapat  $(-Gly-X-Y)_n$ . *Gly*- adalah glisin yang menjadi materi dasar dari ketiga asam amino, sehingga ketiga rangkaian  $\alpha$  berikatan kuat dalam

molekul tropokolagen. *X* adalah asam amino lain dan banyak mengandung Prolin (Pro) dan *Y* adalah asam amino lain yang banyak mengandung hidroksiprolin (Hyp). Pada daging dan kulit ikan kandungan hidroskipolin lebih sedikit dibandingkan dengan daging sapi (Singh *et al.*, 2011).

Kolagen merupakan protien yang melimpah pada ekstraseluler matrik dan memiliki struktur molekul yang khas, yang berkontribusi untuk ekstraseluler *scaffolding*. Kolagen berperan penting dalam menjaga integritas biologis dan struktural ekstraseluler matrik dan memberikan dukungan fisik pada jaringan (Dong & Lc, 2016).

### 2.3.2 Kitosan

Kitosan merupakan polisakarida yang terdiri dari glukosamin dan N-asetilglukosamin residu (Shue Lie *et al*, 2012). Kitosan memiliki kualitas kimia dan biologi yang sangat baik sehingga dapat digunakan secara luas dibidang industri maupun dibidang kesehatan (Sugita P *et al*, 2009). Kitosan merupakan polisakarida alami yang diperoleh dari proses deasetilasi yang membentuk kitin yang tersusun dari satuan penyusun  $\beta$ -(1,4)-2-amino-2-deoksi- $\beta$ -D-glukose dengan gugus amino dan hidroksi yang reaktif. Sifat kitosan pada umumnya dikaitkan dengan kelarutan, sifat kimia, sifat fisika dan sifat biologi. Kitosan berbentuk bubuk besar yang berwarna kecoklatan yang larut dengan baik pada larutan asam asetat encer, selain itu kitosan dapat larut dalam larutan berair dengan pH kurang dari 6,5. Kitosan juga dapat larut di dalam N-metil morfolin-N-oksida. Selain itu senyawa ini dapat larut dalam suasana asam organik dan asam mineral, seperti didalam suasana asam asetat encer, HCl encer, HNO<sub>3</sub> encer, dan asam fosfat 1-2%. Struktur kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.9.



**Gambar 2.9** Struktur Kimia Kitosan (Hasan A *et al*, 2015)

Kitosan memiliki tingkat biokompatibilitas yang tinggi dalam pemodelan hewan dan dapat disesuaikan dengan mudah untuk pengembangan biomaterial implan (Konovalova M V *et al.*, 2017). Bahan berbasis kitosan telah banyak dieksplorasi untuk berbagai aplikasi gigi. Kitosan merupakan biomaterial alami yang aman dan dapat digunakan dalam berbagai bidang di kedokteran gigi antara lain sebagai anti bakterial, menghambat/ membunuh mikroorganisme, penyembuhan luka atau menurunkan rasa nyeri, serta memperbaiki sifat material di kedokteran gigi seperti meningkatkan *compressive* dan *flexural strength* material kedokteran gigi (Adliana I D dan Syaflar L, 2014). Kitosan dapat berinteraksi dengan kolagen melalui pembentukan ikatan hidrogen. Gugus -OH, -NH<sub>2</sub>, dan -C=O pada kolagen mampu membentuk ikatan hidrogen dengan gugus -OH dan -NH<sub>2</sub> pada kitosan (Fernandes *et al.*, 2011). Kitosan dapat meningkatkan kekuatan mekanik *scaffold* berbasis kolagen karena banyaknya gugus amino dalam rantai molekularnya (Peng *et al*, 2006).

### 2.3.3 Plasticizer

*Plasticizer* merupakan bahan organik dengan berat molekul rendah yang ditambahkan pada pembuatan *scaffold* dan salah satu komponen yang memiliki pengaruh cukup besar dalam pembuatan *scaffold* karena mampu meningkatkan fleksibilitas dan ekstensibilitas bahan, meningkatkan elastisitas *scaffold*, meminimalisir keretakan pada *scaffold*, meningkatkan permeabilitas terhadap gas, uap air, dan zat terlarut (Kurnia, 2010). Berat molekul, jumlah dan posisi kelompok hidroksil dari *plasticizer* merupakan variabel yang

mempengaruhi kemampuannya untuk melunakkan polimer berbasis protein (Bourtoom, 2009).

Prinsip kerja dari *plasticizer* adalah interaksi dengan rantai polimer dalam tingkat molekul yang menyebabkan viskoelastisitas polimer. Adapun *plasticizer* yang digunakan dalam pembuatan *scaffold* adalah gliserol, karena gliserol merupakan bahan yang murah, sumbernya mudah diperoleh serta ramah lingkungan karena mudah terdegradasi oleh alam (Wardhani, 2012).

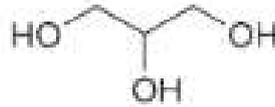
### 2.3.3.1 Gliserol

Gliserol merupakan senyawa yang memiliki tiga kelompok hidroksil dan memiliki rumus senyawa  $C_3H_5(OH)_3$ . Gliserol mengandung tiga gugus hidroksi alkoholik hidrofobik, yang bertanggung jawab atas kelarutannya dalam air dan sifat higroskopisnya. Gliserol merupakan senyawa yang tidak berbau dan tidak berwarna. Gliserol adalah molekul yang sanfat fleksibel karena membentuk ikatan hidrogen intra dan intermolekul. Gliserol sangat stabil dalam kondisi normal, kompatibel dengan bahan kimia lainnya, hamoir tidak menimbulkan iritasi dalam berbagai kegunaannya, dan tidak memiliki efek lingkungan yang *negatif*. Gliserol memiliki sifat sebagai berikut (Pagliaro M dan Rossi M, 2008) :

- massa molar = 92,09 g/mol
- densitas = 1,261 g/cm<sup>3</sup>
- titik leleh = 17,9°C
- titik lebur = 18,2°C
- titik didih = 290°C
- viskositas = 1,412 Pa.s

Gliserol dalam bidang medis dan farmasi digunakan sebagai alat untuk meningkatkan kehalusan, memberikan pelumas (zat pемlastis), dan sebagai humektan, yang merupakan zat higroskopik yang membuat bahan tetap lembab. Gliserol membantu mempertahankan tekstur dan menambahkan humektan, mengendalikan aktivitas air, dan memperpanjang umur simpan

bahan (Pagliaro M dan Rossi M, 2008). Hal ini disebabkan karena gliserol tidak beracun, pemlastis yang murah, sumbernya mudah diperoleh, dapat diperbaharui, serta ramah lingkungan karena mudah terdegradasi oleh alam.



**Gambar 2.10** Struktur Kimia Gliserol (Pagliaro M dan Rossi M, 2008)

#### 2.4 Scaffold

*Scaffold* adalah matriks atau struktur buatan yang diperlukan untuk infiltrasi sel dan pendukung fisik sel yang mengarah kepada proliferasi dan diferensiasi sel ke dalam jaringan fungsional atau organ manusia. *Scafflod* merupakan sebagai *template* untuk pembentukan jaringan baru (O'Brien, 2011). *Scaffold* dapat dikembangkan baik menggunakan polimer alam maupun sintetik. Mengingat *scaffold* memiliki fungsi yang penting, maka sebuah *scaffold* untuk rekayasa jaringan baru memiliki kriteria sebagai berikut (O'Brien, 2011 dan Hoque *et al*, 2015) :

1. Mampu memfasilitasi adhesi sel, membantu pertumbuhan sel serta memungkinkan terjadinya pembelahan sel.
2. Biokompatibel
3. Biodegradabel
4. Porositas harus cukup tinggi untuk tempat adhesi sel dan regenerasi matriks ekstraseluler serta struktur yang berpori memungkinkan terjadinya pembentukan jaringan yang homogen.
5. Memiliki sifat mekanik yang sesuai dengan jaringan gingiva yang diperbaiki.
6. *Template* 3 D membantu pembentukan jaringan baru.
7. Permukaan sesuai untuk penempelan sel, proliferasi dan differensiasi.

## 2.5 Karakterisasi *Scaffold* Kolagen-Kitosan dengan Penambahan Gliserol

### 2.5.1 Uji Morfologi (SEM)

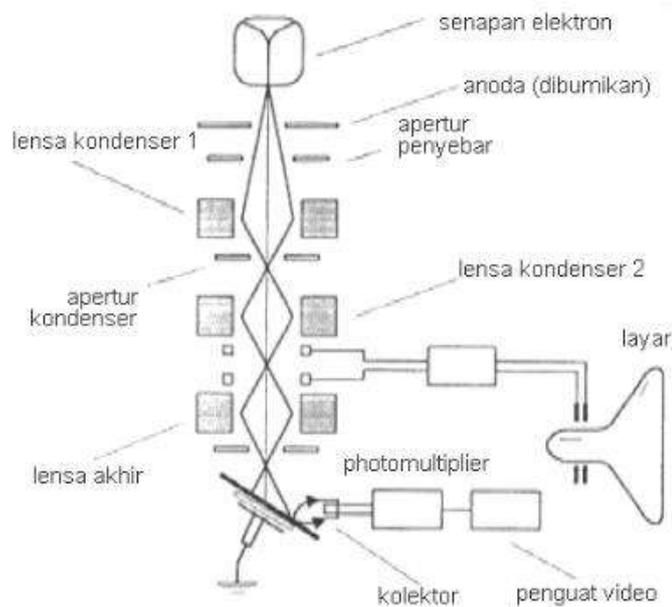
*Scanning Electron Microscope* (SEM) dapat digunakan untuk mendapatkan informasi tentang topografi permukaan bahan, komposisi bahan, dan konduktivitas elektrik bahan, magnifikasi di dalam SEM dapat dikontrol dengan magnitudo 10-500.000 kali (El Fray,2007). Hasil dari citra SEM memiliki resolusi yang tinggi, serta dapat mencapai perbesaran yang tinggi dikarenakan penggunaan elektromagnet.

SEM terdiri dari sebuah senapan elektron yang memproduksi berkas elektron pada tegangan dipercepat sebesar 2 – 30 kV. Berkas elektron tersebut dilewatkan pada beberapa lensa elektromagnetik untuk menghasilkan *image* berukuran <~10 nm pada sampel yang ditampilkan dalam bentuk film fotografi atau ke dalam tabung layar. Sebelum melalui lensa elektromagnetik terakhir *scanning raster* mendeflesikan berkas elektron untuk men-*scan* permukaan sampel. Hasil scan ini tersinkronisasi dengan tabung sinar katoda dan gambar sampel akan tampak pada area yang di-*scan*. Tingkat kontras yang tampak pada tabung sinar katoda timbul karena hasil refleksi yang berbeda-beda dari sampel (Anggraeni, 2014).

Berkas elektron menumbuk permukaan sampel sejumlah elektron direfleksikan sebagai *backscattered electron* (BSE) dan yang lain membebaskan energi rendah *secondary electron* (SE). Emisi radiasi elektromagnetik dari sampel timbul pada panjang gelombang yang bervariasi tapi pada dasarnya panjang gelombang yang lebih menarik untuk digunakan adalah daerah panjang gelombang cahaya tampak (*cathodoluminescence*) dan sinar-X (Anggraeni, 2014). Elektron-elektron BSE dan SE yang direfleksikan dan dipancarkan sampel dikumpulkan oleh sebuah *scintillator* yang memancarkan sebuah pulsa cahaya pada elektron yang datang.

Cahaya yang dipancarkan kemudian diubah menjadi sinyal listrik dan diperbesar oleh *photomultiplier*. Setelah melalui proses pembesaran sinyal

tersebut dikirim ke bagian *grid* tabung sinar katoda. *Scintillator* biasanya memiliki potensial positif sebesar 5 – 10 kV untuk mempercepat energi rendah yang dipancarkan elektron agar cukup untuk mengemisikan cahaya tampak ketika menumbuk *scintillator*. *Scintillator* harus dilindungi agar tidak terkena defleksi berkas elektron utama yang memiliki potensial tinggi. Pelindung metal yang mengandung metal *gauze* terbuka yang menghadap sampel memungkinkan hampir seluruh elektron melalui permukaan *scintillator*. Diagram skematik dan cara kerja SEM ditunjukkan pada Gambar 2.11.



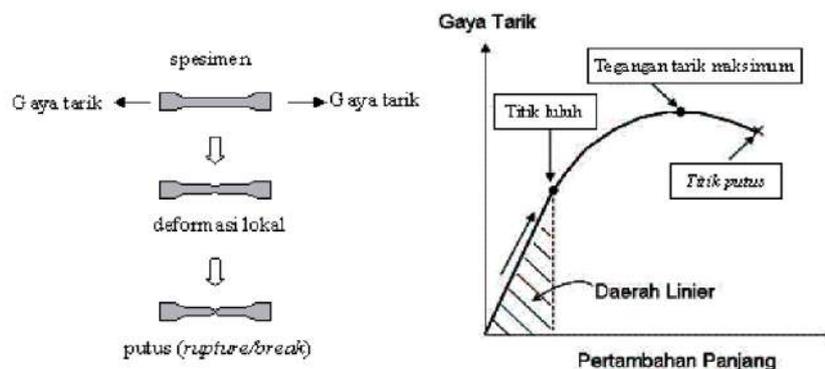
**Gambar 2.11** Skema *Scanning Electron Microscopy* (Anggraeni, 2014).

Prinsip kerja yang digunakan SEM secara umum, yaitu suatu berkas elektron yang berasal dari *electron gun* memiliki 1-25 kV ditembakkan pada sampel. Dari hasil tembakan elektron terdapat elektron primer yang memiliki energi tinggi dan elektron sekunder dengan energi rendah.

### 2.5.2 Uji Tarik

Uji tarik digunakan untuk menentukan sifat suatu bahan. Sifat mekanik *scaffold* dapat diketahui dari hasil uji kuat tarik (*strength at break*) dan saat putus (*elongation at break*) dengan mengaplikasikan gaya secara bolak-balik. Uji tarik biasanya dilakukan pada spesimen yang dibuat menjadi batang uji dengan bentuk yang sesuai dengan standar yang ada. Uji tarik bersifat merusak karena bahan uji yang telah dibentuk menjadi batang uji kemudian dilakukan penarikan sedemikian hingga batang uji patah dalam proses.

Bila kita terus menarik suatu bahan sampai putus, maka kita akan mendapatkan profil tarikan yang lengkap berupa kurva seperti yang digambarkan pada Gambar 2.12. Kurva ini menunjukkan hubungan antara gaya tarikan dengan perubahan panjang. Selain itu, kurva ini juga menunjukkan sifat mekanik suatu bahan meliputi *stress* (tegangan), *strain* (regangan), kekuatan tarik (*tensile strength*), modulus elastisitas (modulus Young), dan lain-lain (Sartika *et al*, 2013).



**Gambar 2.12** Gambaran Singkat Uji Tarik.

Perhitungan pada uji tarik yakni dengan menggunakan Persamaan 2.1 (Sartika *et al*, 2013):

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

Keterangan :

$\sigma$  = Stress ( N/m<sup>2</sup> )

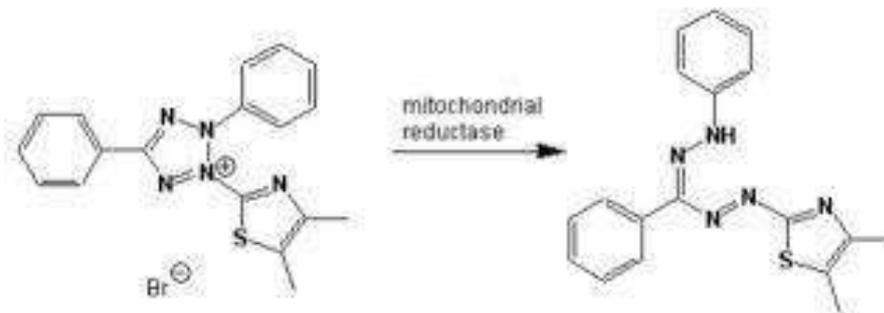
F = Beban ( N )

A = Luas permukaan ( m<sup>2</sup> )

### 2.5.3 Uji Sitotoksitas dengan Metode MTT Assay

Dalam rekayasa biomaterial salah satu hal yang harus dilakukan dalam pengujian toksisitas pada material yakni harus memiliki syarat biokompatibel dengan tubuh manusia. Kemampuan sel untuk bertahan hidup karena adanya senyawa toksik adalah dasar dari uji sitotoksitas. Uji sitotoksitas ini dapat dilakukan dengan dua cara yaitu uji secara *in-vitro* dan uji secara *in-vivo*.

Uji sitotoksitas secara *in vitro* menggunakan kultur sel digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas toksik dari suatu senyawa. Ada beberapa syarat yang harus dipenuhi oleh sistem uji sitotoksik, baik untuk evaluasi keamanan senyawa atau untuk mendeteksi aktivitas toksik suatu senyawa. Salah satu uji sitotoksitas yang dapat dilakukan adalah dengan metode MTT. Metode MTT menggunakan gram kuning tetrazolium, seperti MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide]. MTT akan direduksi oleh mitokondria pada sel yang hidup menjadi senyawa formazan berwarna ungu dan tidak larut dalam air oleh system *suksinate tetrazolium reduktase*. Absorbansi larutan berwarna ini kemudian dapat diukur menggunakan ELISA Reader pada panjang gelombang antara 500 dan 600 nm. Struktur kimia MTT menjadi formazan dapat dilihat pada Gambar 2.13.



**Gambar 2.13** Struktur kimia MTT menjadi Formazan (Held, 2009)

Untuk mengidentifikasi toksisitas pada suatu biomaterial dinilai berdasarkan adanya kerusakan yang terjadi pada suatu biomaterial dengan cara perhitungan sel yang diambil (*up take*) atau dengan pewarna biru tripan. Uji sitotoksitas melalui MTT memberikan informasi sel hidup melalui perhitungan presentase dengan menggunakan Persamaan 2.2 sebagai berikut (Hidayati D, 2011) :

$$\% \text{ Sel Hidup} = \frac{OD \text{ Kontrol Sampel} - OD \text{ Kontrol Media}}{OD \text{ Kontrol Sel} - OD \text{ Kontrol Media}} \times 100 \% \quad (2.2)$$

Keterangan :

% sel hidup = persentase jumlah sel hidup setelah pengujian

OD Kontrol Sampel = nilai densitas optik formazan pada setiap sampel setelah pengujian

OD Kontrol Media = nilai densitas optik formazan pada kontrol media

OD Kontrol Sel = nilai densitas optik formazan pada kontrol sel

Petunjuk toksisitas berdasarkan adanya kerusakan membran meliputi perhitungan sel yang mengambil (up take) atau dengan bahan pewarna seperti *tripan blue*. Akhir dari uji toksisitas dapat memberikan informasi presentase sel yang mampu bertahan hidup. Menurut Khoswanto, Arjini, dan Soesilawati tahun 2008, suatu bahan dikatakan tidak toksik apabila presentase sel hidup dinyatakan lebih dari 50 %.

#### 2.5.4 Uji Swelling

Kemampuan *swelling scaffold* ditentukan merendam *scafflod* pada pH normal di *phosphate buffer saline* (PBS) pada suhu ruang. Berat basah dari *scaffold* dihitung selama beberapa kali dan dikeringkan dengan menggunakan *sponge filter paper* untuk menghilangkan air yang diserap pada permukaan kemudian segera ditimbang (Rosdiani, A. F *et al*, 2017). Tingkat *swelling* bergantung pada jumlah pelarut yang diserap oleh gel, PH, dan temperatur. Uji derajat pengembangan (*swelling degree*) dilakukan untuk melihat kondisi pengembangan dari material akibat pelarut yang masuk kedalam kerangka jaringan. Banyaknya serapan yang terjadi pada *scaffold* dapat dihitung dengan Persamaan 2.3 :

$$E_{sw} = \frac{W_e - W_o}{W_o} \times 100 \% \quad (2.3)$$

Keterangan :

$E_{sw}$  = persentase *swelling scaffold*

$W_o$  = berat awal sebelum dilakukan perendaman

$W_e$  = berat sampel ketika telah dilakukan perendaman

### 2.5.5 Uji Degradasi

Uji degradasi dapat diketahui melalui memonitoring tingkat *swelling* dalam memberikan respon kehadiran enzim dan medium harus diganti setiap hari untuk memaksimalkan konsentrasi aktif dari enzim (Ouasti *et al*, 2011). Metode pengujian degradasi dilakukan dengan media larutan *Simulated Body Fluid* (SBF).

Uji degradasi dilakukan untuk mengetahui berapa lama sampel *scaffold* akan terdegradasi di dalam larutan *Simulated Body Fluid* (SBF) selama rentang waktu yang ditentukan. Pada pengujian bahan direndam dalam larutan SBF yang menstimulasi bagian organik dari plasma darah tanpa adanya kultur sel. Karakteristik yang dilakukan adalah uji absorpsi membran dalam larutan SBF dengan variasi lama perendaman. Rasio degradasi (D%) dihitung dengan penurunan berat menggunakan Persamaan 2.4 :

$$\% \text{ Mass Loss} = \frac{W_o - W_t}{W_o} \times 100\% \quad (2.4)$$

Keterangan :

D (%) = presentase berat

$W_t$  = berat akhir *scaffold* setelah dilakukan perendaman pada PBS

$W_o$  = berat awal pada keadaan kering

### 2.5.6 Uji Ketebalan

Pengukuran suatu benda dapat dilakukan menggunakan alat ukur. Setiap alat ukur memiliki kegunaan yang berbeda-beda. Mikrometer sekrup merupakan salah satu alat ukur yang berfungsi untuk mengukur benda yang mempunyai ukuran kecil dan tipis (Mohamad Ishaq, 2007). Mikrometer sekrup memiliki ketelitian yang sangat tinggi yaitu mencapai 0,01 mm. mikrometer sekrup

memiliki dua skala, yaitu skala utama dan skala nonius. Dengan ketelitian yang sangat tinggi, mikrometer sekrup dapat digunakan untuk mengukur dimensi luar dari benda yang sangat kecil dan tipis seperti kertas, silet, dan kawat. Hasil perhitungan dihitung dengan menggunakan Persamaan 2.5 :

$$d = \text{Skala utama} + (\text{Skala nonius} \times \text{skala terkecil mikrometer sekrup}) \quad (2.5)$$

Keterangan :

d = tebal benda

Skala utama = terdiri atas skala: 1, 2, 3, 4, 5 mm, dan seterusnya yang berada pada bagian atas. Dan nilai tengah: 1,5; 2,5; 3,5; 4,5; 5,5 mm, dan seterusnya yang berada pada bagian bawah

Skala nonius = terdiri atas skala 1 sampai dengan 50

Skala terkecil mikrometer sekrup = 0,01 mm

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 6 bulan. Pembuatan larutan *scaffold* kolagen-kitosan dan gliserol dilakukan di Laboratorium Fisika Material Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, Laboratorium Dasar Bersama Fakultas Farmasi untuk perlakuan *lyophilizer scaffold* kolagen-kitosan-gliserol, Laboratorium Teknik Material dan Metalurgi Institut Teknologi Sepuluh November untuk uji SEM, Laboratorium Dasar Fisika Universitas Brawijaya untuk uji mekanik, Laboratorium Material Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga uji *swelling*, *Institute Tropical Disease (ITD)* Universitas Airlangga untuk uji degradasi, Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya untuk uji MTT-Assay.

#### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kolagen dari produk komersil BATAN, kitosan produk Institut Pertanian Bogor, gliserol 2%, asam asetat, SBF, PBS, aquades dan alkohol

##### 3.2.2 Alat Penelitian

###### 3.2.2.1 Alat Sintesis

Alat sintesis meliputi neraca digital, *glass beaker*, *magnetic bar*, *magnetic stirrer*, *freezer*, *lyophilizer*, gelas ukur, spatula, pH meter, *stopwatch*, kertas saring, dan aluminium foil.

### 3.2.2.2 Alat Karakterisasi

Alat untuk uji karakteristik : *Tensile Strength* (Autograph Imada HV-500NII), *MTT Assay* (Elisa reader), SEM (inspect S50, FEI Corp., Jepang), *Freeze Drying* (OHRIST BETA 1-15, Germany).

### 3.3 Prosedur Penelitian

Tahapan dalam pelaksanaan penelitian pembuatan *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol, yaitu mensintesis kolagen dengan asam sitrat, mensintesis kitosan dengan asam asetat dan mensintesis kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol kemudian dikeringkan dengan menggunakan metode *freeze dry*.

#### 3.3.1 Pembuatan *Scaffold* Kolagen-Kitosan-Gliserol

##### 3.3.1.1 Persiapan Larutan Kolagen

Pembuatan larutan kolagen 1 % (w/v), tahap pertama menimbang 1 gram kolagen yang berupa serbuk dengan menggunakan neraca digital, kemudian dilarutkan dalam 2 % asam sitrat. Kolagen dimasukan sedikit demi sedikit ke dalam *glass beaker* yang telah terisi asam asetat dengan menggunakan *magnetic stirrer* sampai kolagen terlarut secara homogen (Rosdiani, A. F *et al*, 2017).



**Gambar 3.1** Proses pembuatan larutan kolagen dengan *stirrer* (Dokumentasi Pribadi).

### 3.3.1.2 Persiapan Larutan Kitosan

Pembuatan larutan kitosan dengan konsentrasi 3 %, kitosan berupa serbuk seberat 3 gram ditimbang pada neraca digital, kemudian dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam *glass beaker* yang terisi 0,2 M asam asetat, kitosan dilarutkan dengan *magnetic stirrer* hingga homogen (Rosdiani, A. F *et al.*, 2017).



**Gambar 3.2** Proses pembuatan larutan kitosan dengan *stirrer* (Dokumentasi Pribadi).

### 3.3.1.3 Kolagen-Kitosan dengan Penambahan Gliserol

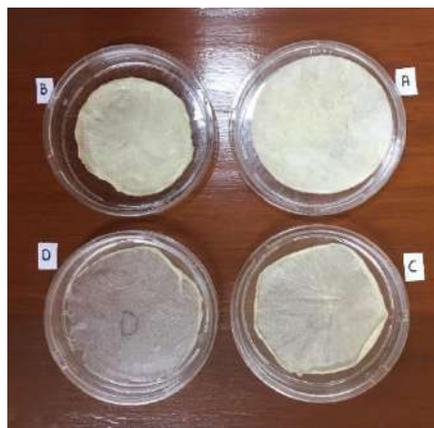
Larutan kolagen dengan konsentrasi 1 % dan larutan kitosan dengan konsentrasi 3 % diukur volumenya pada gelas ukur dengan variasi komposisi kolagen-kitosan 6:4, 7:3, 8:2, 9:1 (v/v) dan dicampurkan, sehingga total larutan kolagen-kitosan menjadi 10 ml dan di *magnetic stirrer* dengan ditambahkan gliserol 2 % sebanyak 2 ml hingga homogen. Campuran kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol didiamkan terlebih dahulu sekitar 3 jam hingga tidak ada gelembung udara yang terperangkap lagi yang diakibatkan proses pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* dan dicetak pada plat (Rosdiani, A. F *et al.*, 2017).



**Gambar 3.3** Sampel dengan Variasi Komposisi Kolagen-Kitosan dengan Penambahan *Plasticizer* Gliserol : (a) 6:4:2 ; (b) 7:3:2 ; (c) 8:2:2 ; (d) 9:1:2 (Dokumentasi Pribadi).

#### 3.3.1.4 Pembuatan *Scaffold* Kolagen-Kitosan dengan Penambahan Gliserol

Campuran kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol yang telah dicetak dilakukan pembekuan sebelum di *freeze dry*. Pembekuan awal dilakukan pada suhu 4 °C selama 2 jam, kemudian disimpan pada suhu -20 °C selama 24 jam, disimpan kembali ke dalam suhu -80 °C selama 2 jam. Setelah itu sampel dilakukan liofilisasi dengan *freeze dry* selama kurang lebih 48 jam (Rosdiani, A. F *et al.*, 2017).



**Gambar 3.4** Hasil Proses *Freeze Dry* pada Sampel *Scaffold* Kolagen-Kitosan dengan Penambahan *Plasticizer* Gliserol : (a) 6:4:2 ; (b) 7:3:2 ; (c) 8:2:2 ; (d) 9:1:2 (Dokumentasi Pribadi).

### 3.4 Karakterisasi *Scaffold* Kolagen-Kitosan dengan Penambahan Gliserol

#### 3.4.1 Uji SEM

Uji morfologi (SEM) dilakukan dengan menggunakan alat *Scanning Electron Microscopy* (Inspect S50, FEI Corp, Jepang), yang ditunjukkan pada Gambar 3.6. Uji Morfologi bertujuan untuk melihat struktur permukaan, diameter pori, lapisan berpori, dan lapisan tidak berpori membrane *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol. Sampel dilakukan preparasi pemotongan dengan ukuran sesuai sampel *holder* yaitu 12 mm atau 25 mm, kemudian dilakukan pelapisan dengan Au atau Pd dengan menggunakan metode *sputtering coating* sehingga sampel tidak mengalami kerusakan saat dilakukan *scanning*.



**Gambar 3.5** Alat Uji Morfologi SEM (Inspect S50, FEI Corp, Jepang)  
(Dokumentasi Pribadi)

### 3.4.2 Uji Tarik

Uji tarik dilakukan dengan membetuk sampel terlebih dahulu sesuai standar yang digunakan kemudian, ditarik hingga putus (Sartika *et al*, 2013). Sampel dicetak dengan ukuran standar untuk pengujian sampel polimer, yang mana dipotong sesuai cetakan atau dumbel.



**Gambar 3.6** Alat untuk Mengukur Uji Kekuatan Tarik (Dokumentasi Pribadi).

Pada kedua ujung sampel dikaitkan pada alat uji tarik lalu kedua ujung sampel akan diberikan gaya tarik yang berlawanan hingga sampel terputus. Dari perlakuan tersebut akan didapatkan beberapa besaran yang dapat dihitung dengan menggunakan Persamaan 2.1 untuk menghitung *stress*.

### 3.4.3 Uji Sitotoksitas (MTT Assay)

Pada tahap uji ini dilakukan metode pengujian MTT *assay* dengan pembacaan persentase sel hidup menggunakan *Elisa Reader*. Kultur sel BHK-21 pada media Eagle sebagai tempat tumbuh sel yang kemudian dipindahkan pada *microwell plate* dengan jumlah tiap sumur sebanyak 100  $\mu$ l dan dinkubasi selama 24 jam. Setelah itu, peletakan sampel pada *microwell plate* yang telah diinkubasi dan diinkubasi kembali selama 24 jam. Media dibuang dan dicuci dengan PBS sebanyak 250  $\mu$ l untuk membersihkan sisa hasil metabolisme sel

dan sisa sampel yang tersisa. Diberikan DMEM sebanyak 30  $\mu$ l dan larutan MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide] sebanyak 10  $\mu$ l sebagai pewarnaan lalu didiamkan selama 3 jam dan dibuang kembali. Larutan DMSO sebanyak 10  $\mu$ l ditambahkan pada *microwell plate* dan *dishaker* selama 5 menit agar pencampuran dengan larutan DMSO homogen .

Selanjutnya diamati dengan *ELISA Reader* pada panjang gelombang 630 nm. Hasil pengujian dihitung dengan Persamaan 2.3 dan suatu bahan dikatakan tidak toksik apabila persentase sel hidup dinyatakan lebih dari 50 % (Khoswanto, Arjini, dan Soesilawati, 2008).



**Gambar 3.7** *ELISA Reader* dan *microwell plate* (Dokumentasi Pribadi).

#### 3.4.4 Uji Swelling

Perhitungan *swelling* dilakukan dengan cara merendam *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *platicizer* gliserol pada cairan *phosphate buffer saline* dengan pH 7. Sebelumnya *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol dipotong kecil-kecil dengan ukuran 1 cm x 1 cm berbentuk persegi. Berat *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *platicizer* gliserol sebelum dilakukan perendaman diukur berat keringnya terlebih dahulu. Kemudian catat berat sampel setelah dilakukan perendaman setiap 1 menit pengujian untuk sampel *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan gliserol. Perhitungan untuk mengetahui persentase *swelling* yang terjadi pada *scaffold* kolagen-

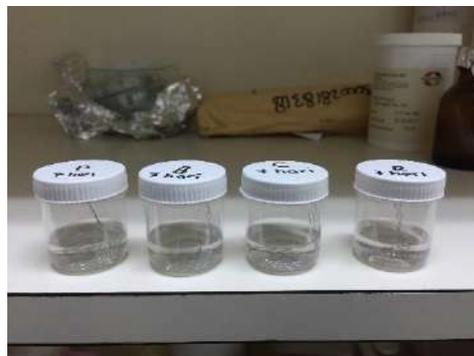
kitosan dengan penambahan *platicizer* gliserol dapat dihitung menggunakan Persamaan 2.4.



**Gambar 3.8** Proses Uji *Swelling* (Dokumentasi Pribadi).

### 3.4.5 Uji Degradasi

Uji Degradasi merupakan parameter yang dibutuhkan untuk melihat waktu yang dibutuhkan oleh *scaffold* terdegradasi sesuai pembentukan jaringan baru. Pengujian degradasi dari *scaffold* dapat dilakukan dengan cara perendaman sampel pada larutan *Phosphate Buffer Saline* dengan pH 7. Sampel *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *platicizer* gliserol dibentuk dengan ukuran 1 x 1 cm, kemudian dimasukkan kedalam wadah yang telah berisi larutan PBS sebanyak 15 ml dan ditutup rapat serta disimpan pada suhu 37°C selama 7 – 14 hari untuk dilakukan pengamatan degradasi pada sampel *scaffold* (Rosdiani, A. F *et al.*, 2017).



**Gambar 3.9** Proses Uji Degradasi (Dokumentasi Pribadi).

### 3.4.6 Uji Ketebalan

Mikrometer sekrup merupakan alat ukur yang digunakan untuk mengukur panjang suatu benda dan tebal sebuah benda. Mikrometer sekrup memiliki tingkat ketelitian sepuluh kali lebih teliti daripada jangka sorong yakni mencapai 0,01 mm atau 0,001 cm (Iradaty F, 2017). Berikut ini merupakan cara menggunakan mikrometer sekrup :

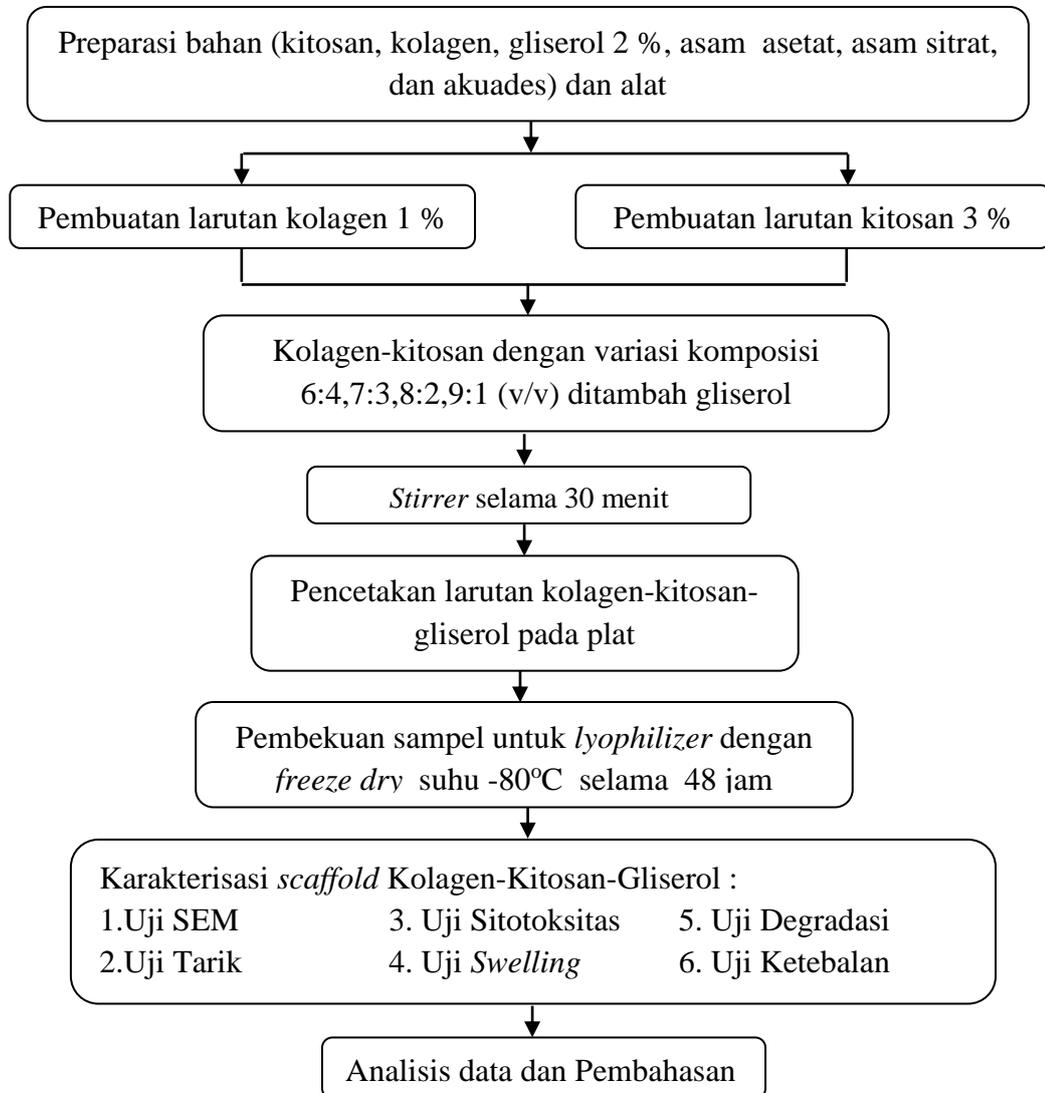
1. Memutar bidal (pemutar) berlawananarah dengan arah jarum jam sehingga ruang antara kedua rahang cukup untuk ditempati benda yang akan diukur.
2. Meletakkan benda diantara kedua rahang, yaitu rahang tetap dan rahang geser.
3. Memutar bidal (pemutar besar) searah jarum jam sehingga benda yang akan diukur terjepit oleh rahap tetap dan rahang geser.
4. Memutar pemutar kecil searah jarum jam sehingga skala nonius pada pemutar besar sudah tidak dapat bergeser kembali.
5. Membaca hasil pengukuran pada skala utama dan skala nonius.

Skala panjang yang terdapat pada poros tetap merupakan skala utama, sedangkan skala panjang yang terdapat pada poros ulir merupakan skala nonius (Iradaty F, 2017). Preparasi sampel *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol dibentuk dengan ukuran 1 x 1 cm.



**Gambar 3.10** Alat untuk Uji Ketebalan (Dokumentasi Pribadi).

Skema penelitian dari pembuatan *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol pada Gambar 3.11.



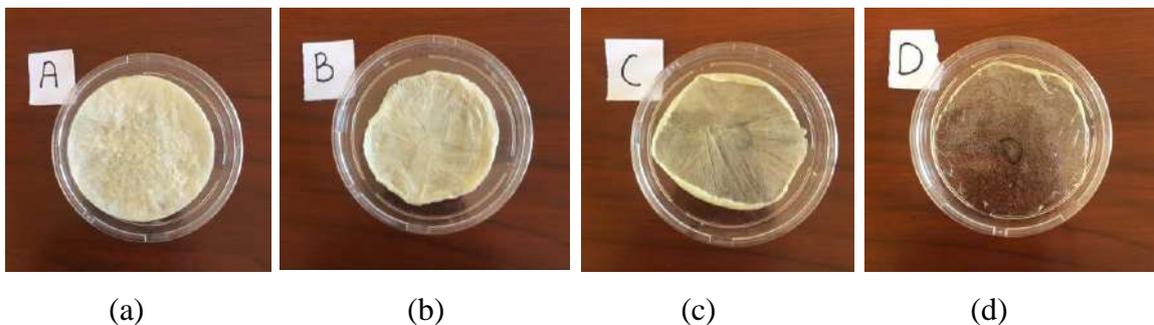
**Gambar 3.11** Skema Penelitian (Rosdiani, A. F *et al.*, 2017).

## BAB IV

## HASIL DAN PEMBAHASAN

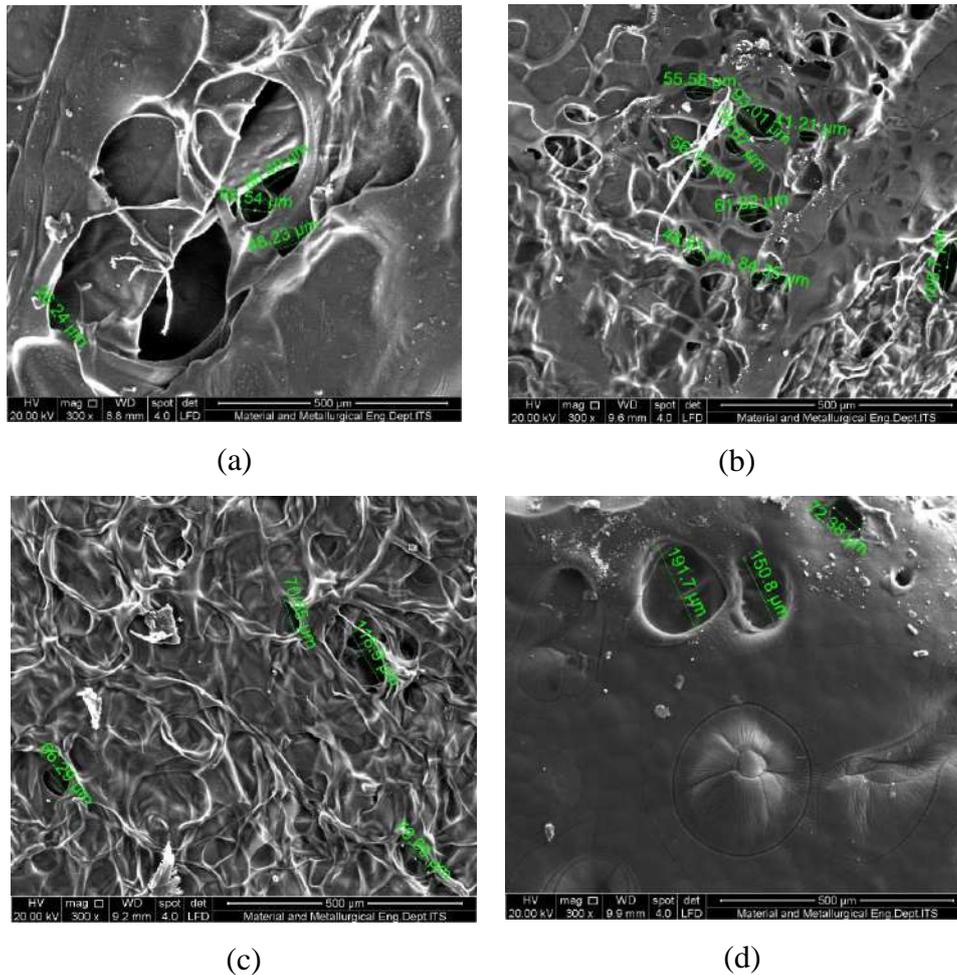
Pada penelitian ini telah berhasil disintesis *scaffold* berbahan kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol dengan melarutkan kolagen dalam asam sitrat dan melarutkan kitosan dalam asam asetat 0,2 M dengan *magnetic stirrer* hingga homogen. Pada proses pembuatan sampel dilakukan variasi komposisi kolagen : kitosan yaitu 6:4, 7:3, 8:2 dan 9:1 (v/v). Selanjutnya, diberi penambahan *plasticizer* gliserol dengan konsentrasi 2%. Kemudian sampel dicetak di dalam *petri disc* dan diproses menggunakan metode *freeze dry* selama 48 jam dengan suhu  $-80^{\circ}\text{C}$ , sehingga dihasilkan *scaffold* berpori seperti pada Gambar 4.1.

Pada bab ini akan menyajikan data hasil karakterisasi dan pembahasan mengenai pengaruh variasi komposisi kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol. Karakterisasi uji pada sampel *scaffold* kolagen-kitosan dan penambahan *plasticizer* meliputi hasil uji morfologi (uji SEM), uji mekanik (uji tarik), uji sitotoksitas (uji MTT-Assay), uji absorpsi (*swelling*), uji degradasi dan uji ketebalan.



**Gambar 4.1** *Scaffold* Kolagen-Kitosan dengan Penambahan *Plasticizer* Gliserol setelah di *freeze dry* : (a) 6:4:2 ; (b) 7:3:2 ; (c) 8:2:2 ; (d) 9:1:2 (Dokumentasi Pribadi).

#### 4.1 Hasil Uji Morfologi



**Gambar 4.2** Permukaan *scaffold* Kolagen-Kitosan dengan Penambahan *Plasticizer* Gliserol (perbesaran 300x) : (a) 6:4:2 ; (b) 7:3:2 ; (c) 8:2:2 ; (d) 9:1:2.

Uji Morfologi dilakukan untuk mengetahui struktur morfologi permukaan serta ukuran pori yang terbentuk pada sampel *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol dengan metode *freeze dry*. Persiapan uji dimulai dengan preparasi sampel yang diletakkan pada penggantung (*holder*) kemudian diberi *coating* emas dan dimasukkan ke dalam alat *Scanning Electron Microscope* (SEM) merk Inspect S50, FEI Corp., Jepang. Pada saat melakukan pengamatan sampel, lokasi permukaan benda yang ditembak dengan berkas elektron *discan* ke seluruh area daerah pengamatan kemudian ditampilkan dalam bentuk *image* (Abdullah dan Khairurrijal, 2009). Hasil dari uji morfologi yang dilakukan yaitu struktur permukaan dan ukuran pori dari sampel dengan

variasi konsentrasi kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol dapat dilihat pada Gambar 4.2. Dari hasil pengukuran diperoleh data untuk besar nilai ukuran pori yang didapatkan pada sampel *scaffold* yang disajikan pada Tabel 4.1.

**Tabel 4.1** Hasil Uji Morfologi *Scaffold* Kolagen-Kitosan dengan Penambahan *Plasticizer* Gliserol.

Sampel <i>Scaffold</i> dengan Ratio Kolagen-Kitosan-Gliserol	Ukuran Pori Sampel ( $\mu\text{m}$ )
A (6:4:2)	26,68 – 86,49
B (7:3:2)	48,81 – 108,7
C (8:2:2)	66,29 – 118,9
D (9:1:2)	72,38 – 191,7
O'Brien, F.J., Harley, B.A., Yannas, I.V. and Gibson L.J. (2005). The Effect of Pore Size on Cell Adhesion in Collagen-GAG Scaffolds, <i>Biomaterials</i> , 26: 433-441.	63 – 150

Semakin besar ukuran pori pada sampel, maka material tersebut memiliki sifat yang rendah pada uji kekuatan tarik. Sebaliknya jika semakin kecil ukuran pori pada sampel, maka material tersebut memiliki sifat yang cenderung lebih kuat pada uji kekuatan tarik (Ikeda *et al.*, 2014 dan Kim *et al.*, 2005). Hal ini juga dapat disebabkan karena proses *freeze dry*, dimana ukuran pori sangat berpengaruh pada saat proses pembekuan sampel. Apabila pori yang terbentuk terlalu kecil, maka akan membatasi difusi nutrisi, sedangkan jika sampel yang terbentuk terlalu besar, maka akan mengalami penurunan luas permukaan yang membatasi adanya adhesi sel (Murphy *et al.*, 2010). Sehingga ukuran pori yang terbentuk dapat mempengaruhi *cell attachment*, infiltrasi, dan vaskularisasi pada *scaffold* (Murphy *et al.*, 2010). Adanya kolagen pada kitosan dapat meningkatkan ukuran pori dan porositas pada *scaffold* (Zhu *et al.*, 2009; Arpornmaeklong *et al.*, 2007; dan Tan *et al.*, 2001). Hal ini disebabkan jumlah gugus amino yang besar pada rantai polimer kitosan akan memperkuat serat dengan cara

mengikat serat tersebut dan berperan sebagai *crosslink* untuk meningkatkan keutuhan matrik secara keseluruhan (Arpornmaeklong *et al*, 2007). Ikatan hidrogen yang dibentuk oleh kolagen dan kitosan kemudian mengikat struktur *triple helix* pada kolagen dan membentuk pori antara serat-serat pada permukaan *scaffold* (Arpornmaeklong *et al*, 2007; dan Tan *et al*, 2001). Ukuran pori yang harus tercapai agar dapat menjadi sebuah *scaffold* untuk penyembuhan kasus pada periodontal adalah dengan rentang 63-150  $\mu\text{m}$  sebab jika ukuran pori lebih kecil dari rentang maka tidak akan ada sel yang dapat tumbuh didalam *scaffold* (Peng *et al.*, 2007 dan O'Brien *et al.*, 2005). Berdasarkan hasil uji *Scanning Electron Microscope* (SEM) dapat dikatakan bahwa rentang ukuran pori pada sampel C memenuhi standar aplikasi *scaffold* untuk penyembuhan pada kasus periodontal. Adanya pori dibutuhkan untuk nutrisi sel, proliferasi, dan migrasi pada jaringan pembentuk pembuluh darah serta terbentuknya jaringan baru (Salerno A *et al*, 2012; Causa F *et al*, 2007; dan Hollister S *et al*, 2005).

#### 4.2 Hasil Uji Tarik

Parameter penting karakteristik mekanik yang diukur dan diamati dari sebuah *scaffold* adalah kekuatan tarik. Uji tarik digunakan untuk mengetahui ketahanan suatu material dengan pemberian beban maksimal yang telah disesuaikan dengan standar *American Society for Testing Material* (ASTM D 638). Uji tarik dilakukan menggunakan alat *tensile test* Imada HV-500NII Japan. Data yang diperoleh telah dianalisa menggunakan Persamaan 2.1 sehingga dapat diketahui nilai kuat tarik dari *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol pada masing-masing variasi komposisi.

**Tabel 4.2** Hasil Pengukuran Kuat Tarik Sampel *Scaffold* Kolagen – Kitosan dengan Penambahan *Plasticizer* Gliserol

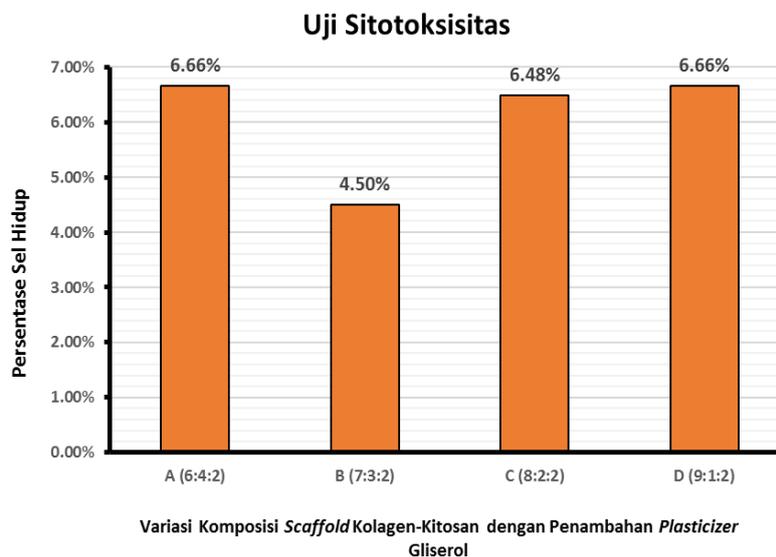
Sampel <i>Scaffold</i> dengan Ratio Kolagen-Kitosan-Gliserol	$\sigma$ (MPa)
A (6:4:2)	8,17
B (7:3:2)	7,93
C (8:2:2)	5,73
D (9:1:2)	2,87
Goktas, S., Dmytryk, J. J., & McFetridge, P. S. 2011. <i>Biomechanical Behavior of Oral Soft Tissues. Journal of Periodontology</i> , 82(8), 1178–1186.	2,75 – 5,13

Data nilai kuat tarik ditampilkan pada Tabel 4.2. Penelitian yang dilakukan oleh Goktas, S., Dmytryk, J. J., dan McFetridge, P. S tahun 2011, besar nilai kuat tarik yang dihasilkan untuk aplikasi gingiva adalah 2,75 – 5,13 MPa. Sehingga dari keempat sampel tersebut, *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol pada sampel D (9:1:2) yang memenuhi nilai kuat tarik untuk aplikasi gingiva yaitu sebesar 2,87 MPa. Bertambahnya nilai kekuatan tarik sebanding dengan bertambahnya konsentrasi kitosan. Hal tersebut disebabkan banyaknya gugus amino pada rantai molekul kitosan dapat meningkatkan kekuatan mekanik pada *scaffold* (Peng *et al.*, 2006). Penurunan nilai kuat tarik pada sampel *scaffold* C dan D dikarenakan terlalu banyak komposisi kolagen yang digunakan dan komposisi kitosan yang sedikit sehingga gugus amino pada rantai kitosan yang berfungsi memperkuat ikatan serat *scaffold* semakin menurun. Interaksi antara kolagen dan kitosan dapat terjadi dengan pembentukan ikatan hidrogen. Kelompok -OH, -NH<sub>2</sub>, -C=O dalam kolagen mampu membentuk ikatan hidrogen dengan -OH dan -NH<sub>2</sub> dalam kitosan. Semakin tinggi konsentrasi kitosan yang diberikan, maka hasil kuat tarik menjadi lebih besar. Hal tersebut disebabkan karena dengan bertambahnya kitosan yang diberikan, gugus -NH<sub>2</sub> yang dapat berikatan dengan ikatan hidrogen pada interaksi kolagen dan kitosan juga

akan meningkat (Selpiana *et al.*,2016). Interaksi kolagen dan kitosan yang meningkat akan membentuk struktur *triple helix* pada kolagen, sehingga serat-serat pada *scaffold* terbentuk (Arpornmaeklong *et al.*, 2007; dan Tan *et al.*, 2001).

### 4.3 Hasil Uji Sitotoksitas

Pada penelitian ini dilakukan uji sitotoksitas pada *scaffold* dengan menggunakan pereaksi MTT {3-(4,5-dimetil-2-thiazoli)-2,5-diphenil-2H-tetrazolium-bromida}. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui nilai toksisitas suatu material secara langsung terhadap kultur sel (Fazwishni *et al.*, 2010). Sel yang digunakan adalah sel fibroblast *Baby Hamster Kidney- 21* (BHK-21) karena sel ini berasal dari embrio sehingga mudah tumbuh dan mudah dilakukan sub kultur ulang (Emilda *et al.*, 2014). Pada pengujian ini terdapat spesimen yang didalamnya berisi kontrol media dan kontrol sel. Kontrol media merupakan campuran media *eagle* sedangkan kontrol sel terdiri dari sel fibroblast BHK-21 dan *Eagle's*. Hasil pengujian sitotoksitas yang dapat menunjukkan persentase sel hidup dari sampel *scaffold* dengan variasi komposisi kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol yakni 6:4:2, 7:3:2, 8:2:2, dan 9:1:2 ditampilkan pada Lampiran 7.

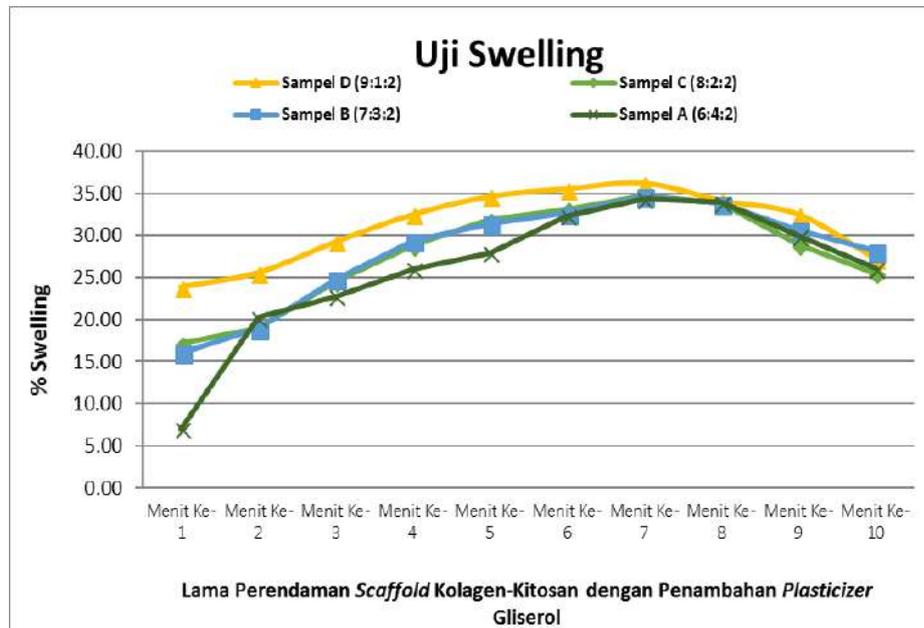


**Gambar 4.3** Grafik Hubungan Antara Variasi Ratio Kolagen-Kitosan-Gliserol terhadap Persentase Sel Hidup.

Pada Gambar 4.3, menunjukkan hasil perhitungan dari setiap sampel yang telah melalui proses uji sitotoksitas dan pembacaan melalui *Elisa Reader*. Keempat sampel *scaffold* menunjukkan nilai yang berada dibawah standar toksisitas suatu sampel. Hal ini ditunjukkan dengan persentase sel hidup dari keempat sampel *scaffold* yang menunjukkan nilai dibawah 50% dengan range persentase sel hidup yaitu 4,50 – 6,66%. Nilai tersebut tidak sesuai dengan apa yang diharapkan, dikarenakan suatu material dikatakan tidak toksik apabila persentase sel hidup dinyatakan lebih dari 50% (Khoswanto, Arjini, dan Soesilawati, 2008).

Ketidak sesuaian nilai toksisitas dari keempat sampel dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya media sel yang tidak cocok dengan sampel, pH, suhu inkubasi, komposisi pelarut organik, dan pencucian PBS yang dilakukan berulang kali. Pada saat pencucian *well plate*, sampel terlebih dahulu dibuang kemudian dilakukan pencucian PBS pada *well plate*. Pencucian PBS dilakukan berulang kali untuk membersihkan sampel yang menempel pada dinding *well plate*. Hal tersebut dapat mengakibatkan sel yang menempel pada sampel ikut terbuang sehingga saat dilakukan pengamatan di bawah mikroskop cahaya, *well plate* tidak tampak adanya sel. Sehingga saat pembacaan pada *Elisa Reader* menunjukkan hasil yang tidak baik. Selain itu pada penelitian ini bahan-bahan yang digunakan bersifat asam seperti asam asetat dan asam sitrat yang merupakan asam lemah, sehingga dapat menimbulkan faktor persentase viabilitas sel hidup menurun karena sel tidak berkembang biak (Widiyanti P *et al*, 2017). Kadar pH yang rendah pada asam dapat menyebabkan sel mengalami denaturasi protein, yaitu rusaknya ikatan disulfide kovalen intramolekul dengan ikatan ionik, ikatan hidrofobik, dan ikatan hidrogen (Brooks GF *et al*, 2001).

#### 4.4 Hasil Uji *Swelling*



**Gambar 4.4** Grafik Hubungan Antara % *Swelling* terhadap Lama Perendaman *Scaffold* Kolagen-Kitosan-Gliserol.

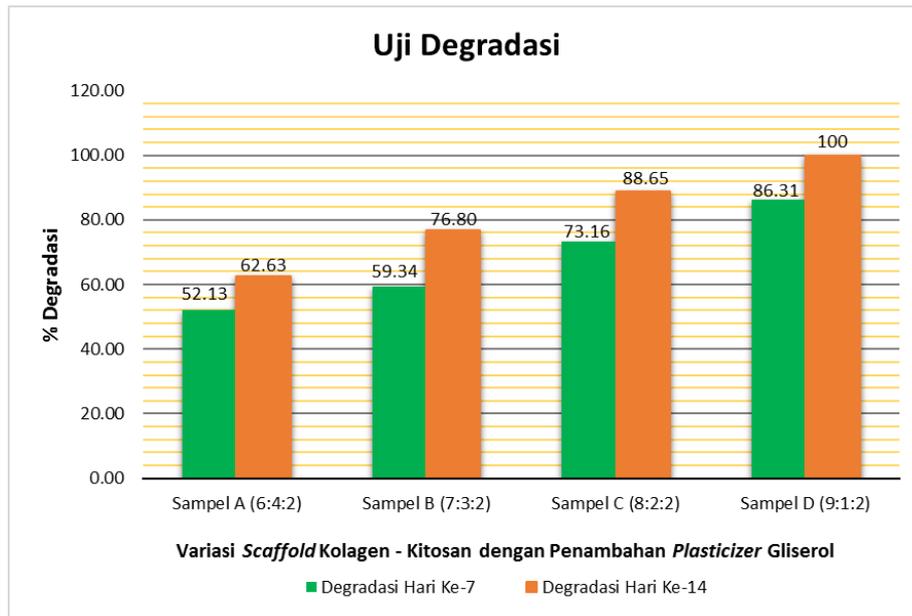
Pengujian *swelling* dilakukan untuk mengetahui kemampuan absorpsi dari *scaffold* dengan cara merendam sampel pada larutan *Phosphate Buffered Saline*. Perhitungan sampel dilakukan setiap 1 menit dengan menimbang sampel yang belum direndam terlebih dahulu, kemudian setelah direndam selama 1 menit sampel ditimbang kembali dan didapatkan persentase *swelling* yang ditampilkan pada Lampiran 11. Grafik hubungan antara persentase *swelling* terhadap lama perendaman sampel *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol ditampilkan pada Gambar 4.4. Semua sampel telah mencapai kesetimbangan setelah mengalami perendaman selama 7 menit ke dalam larutan *Phosphate Buffer Saline*. Kesetimbangan terjadi di saat sampel sudah mengalami fase jenuh di dalam larutan larutan PBS. Fase jenuh terjadi saat sampel sudah tidak bisa mengabsorpsi larutan PBS secara maksimal.

Berdasarkan Gambar 4.4 terlihat bahwa pada menit ke 7 sudah mulai mengalami penurunan hasil persentasi *swelling*. Penurunan peresentasi *swelling* terjadi pada menit ke 8, 9, dan 10 dikarenakan pada menit tersebut sampel sudah mengalami kerusakan. Hal tersebut dikarenakan interaksi hidrogen yang terjadi antara kolagen dan kitosan

pada menit tersebut saat proses perendaman larutan PBS sampel sudah melampaui batas maksimal untuk mengikat air (Peng *et al.*, 2006). Sampel A, B, C, dan D yang telah mengalami kesetimbangan didapatkan hasil presentasi *swelling* sebesar 34,34%; 34,67%; 34,73% dan 36,19%. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi kolagen dapat meningkatkan hasil presentasi *swelling*. Kolagen dapat bertindak sebagai pengubah permukaan kitosan yang dapat menyebabkan nilai dari hasil *swelling* menjadi tinggi (Peng *et al.*, 2006). Struktur *triple helix* pada kolagen mengikat gugus amino pada rantai panjang kitosan, sehingga mengubah permukaan kitosan menjadi lebih kecil. Sifat hidrofilik merupakan kemampuan bahan untuk larut dalam air, sedangkan peningkatan nilai persentase *swelling* dapat terjadi karena adanya gugus hidrofilik di dalam kolagen, seperti -COOH, -NH<sub>2</sub>, dan -OH yang memiliki sifat untuk mengikat air melalui ikatan hidrogen (Peng *et al.*, 2006). Besarnya konsentrasi kolagen yang diberikan pada kitosan dapat meningkatkan nilai persentase *swelling*, dikarenakan sifat hidrofilik yang dimiliki kolagen (Peng *et al.*, 2006).

#### 4.5 Hasil Uji Degradasi

Pengujian ini berfungsi untuk mengetahui lamanya sampel dapat terurai dalam tubuh, sehingga sel kemudian dapat menghasilkan matriks ekstraseluler (O'Brian, 2011). Uji degradasi dilakukan sebagai simulasi ketika *scaffold* diaplikasikan pada bagian gingiva. Utamanya perubahan fisik yang diamati adalah saat material luruh akibat interaksi dengan lingkungan. Proses degradasi yang terjadi pada sampel diamati selama 7 hari dan 14 hari dengan cara merendam sampel pada larutan *Phosphate Buffer Saline* dan disimpan pada suhu 37° C. *Phosphate Buffer Saline* merupakan media cairan yang memiliki komposisi mirip dengan cairan tubuh manusia. Hasil perhitungan persentase degradasi sampel ditampilkan pada Lampiran 9.



**Gambar 4.5** Grafik Hubungan Antara % Degradasi terhadap Variasi Komposisi *Scaffold* Kolagen-Kitosan-Gliserol.

Pada Gambar 4.5 tampak bahwa *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol untuk sampel D (9:1:2) mengalami persentase degradasi sebesar 100% pada hari ke 14. Sebuah studi mengatakan bahwa penyembuhan untuk aplikasi gingiva diperlukan waktu selama 7 – 14 hari hingga pembentukan gingiva secara sempurna (Soheilifar *et al.*, 2015). Dapat dikatakan bahwa semakin banyak komposisi kolagen pada *scaffold* menyebabkan semakin cepat waktu terdegradasi. Kolagen memiliki sifat mudah kehilangan bentuk dan ukuran karena degradasi yang cepat ketika berhubungan dengan cairan tubuh atau media kultur sel (Peng *et al.*, 2006). Hal ini dikarenakan sifat hidrofilisitas yang dimiliki oleh kolagen cukup tinggi. Sifat hidrofilisitas merupakan kemampuan kolagen untuk mengikat air melalui ikatan hidrogen, sehingga kolagen lebih mudah larut terhadap air. Jika ikatan hidrogen bertemu dengan air (H<sub>2</sub>O), maka terjadi gaya tarik antar molekul pada atom H yang terikat dengan atom yang sangat elektronegatif (N, O, dan F).

#### 4.6 Hasil Uji Ketebalan

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui ketebalan *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol. Uji ketebalan pada sampel dilakukan menggunakan alat mikrometer sekrup dengan ketelitian 0,01 mm. Preparasi sampel dilakukan dengan memotong sampel yang berukuran 1x1 cm. Data yang diperoleh dianalisa menggunakan Persamaan 2.5 sehingga dapat diketahui nilai ketebalan dari *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol pada masing-masing variasi komposisi.

**Tabel 4.3** Hasil Pengukuran Ketebalan Sampel *Scaffold* Kolagen – Kitosan dengan Penambahan *Plasticizer* Gliserol

Sampel dengan Variasi Ratio Kolagen-Kitosan-Gliserol	Ukuran Ketebalan (mm)
A ( 6:4:2 )	0,65 ± 0,005
B ( 7:3:2 )	0,62 ± 0,005
C ( 8:2:2 )	0,55 ± 0,005
D ( 9:1:2 )	0,51 ± 0,005
Manson dan Eley. 2004. <i>Periodontics</i> . London: Elsevier Limited.	0-2

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui ketebalan *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol. Uji ketebalan pada sampel dilakukan menggunakan alat mikrometer sekrup dengan ketelitian 0,01 mm. Preparasi sampel dilakukan dengan memotong sampel yang berukuran 1x1 cm. Data yang diperoleh dianalisa menggunakan Persamaan 2.5 sehingga dapat diketahui nilai ketebalan dari *scaffold* kolagen-kitosan dengan penambahan *plasticizer* gliserol pada masing-masing variasi komposisi. Data nilai ketebalan ditampilkan pada Tabel 4.6. Hasil pengukuran ketebalan pada semua sampel yaitu A(6:4:2), B(7:3:2), C(8:2:2), dan D(9:1:2) memenuhi untuk standar aplikasi gingiva yaitu 0,51 – 0,65 mm. Pada bagian *gingiva* membentuk *cuff* selebar 1-2 mm disekitar leher gigi dan dinding eksternal leher *gingiva* yang memiliki kedalaman 0-2 mm (Manson dan Eley, 2004).

## BAB V

## KESIMPULAN DAN SARAN

## 5.1 KESIMPULAN

1. Karakteristik mikroskopik *scaffold* pada hasil uji SEM menunjukkan bahwa sampel memiliki ukuran pori sebesar 66,29 – 118,9  $\mu\text{m}$  yang memenuhi standar untuk aplikasi periodontal, yaitu 63-150  $\mu\text{m}$ . Hasil uji sitotoksitas menunjukkan bahwa keempat sampel memiliki persentase nilai sel hidup dibawah 50%. Karakteristik makroskopik *scaffold* pada hasil uji kuat tarik menunjukkan bahwa penambahan komposisi kolagen dapat menurunkan nilai kuat tarik menjadi 2,87 Mpa pada sampel D dengan ratio kolagen : kitosan : gliserol yaitu 9:1:2 . Hasil uji *swelling* menunjukkan bahwa semua sampel mengalami titik kesetimbangan pada saat mengabsorpsi larutan PBS pada menit ke 7. Hasil uji degradasi menunjukkan bahwa sampel yang terdegradasi selama 14 hari didapatkan pada sampel D dengan ratio kolagen : kitosan : gliserol yaitu 9:1:2 dengan nilai 100%, yaitu sesuai dengan degradasi *scaffold* pada aplikasi *gingiva*. Sedangkan, hasil uji ketebalan menunjukkan bahwa semua sampel memiliki ukuran ketebalan yang memenuhi untuk aplikasi *gingiva* yaitu 0,5 mm dengan standar pada ketebalan *gingiva* sebesar 0-2 mm.
2. Sampel dengan komposisi kolagen:kitosan:gliserol terbaik yaitu dengan ratio 9:1:2 (Sampel D) sebagai *scaffold* untuk kasus *gingival recession* berdasarkan parameter dari uji kuat tarik, uji *swelling*, uji degradasi serta uji ketebalan. Sedangkan sesuai hasil uji *Scanning Electron Microscope* (SEM) sampel dengan komposisi kolagen:kitosan:gliserol terbaik yaitu dengan ratio 8:2:2 (Sampel C).

## 5.2 SARAN

1. Perlu dilakukan pengontrolan pH pelarut kolagen dan kitosan agar mendapatkan gambar status sitotoksitas yang akurat.
2. Perlu dilakukan uji *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) untuk mengetahui adanya ikatan yang terjadi pada kolagen-kitosan-gliserol yang dapat berpengaruh terhadap karakteristik *scaffold*.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abdullah M, Khairurrijal. 2009. *Karakterisasi Nanomaterial*. Vol.2 No.1.1. Jurnal Nanosains dan Teknologi. Bandung.
- Anggraeni, Nuha D. 2014. *Analisa SEM (Scanning Electron Microscopy) dalam Pemantuan Proses Oksidasi Magnetite Menjadi Hematite*. Jurusan Teknik Mesin, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Nasional: Bandung.
- Angulo Daniel Enrique López, Sobral. Paulo José do Amaral, 2016. *Characterization of gelatin/chitosan scaffold blended with aloe vera and snail mucus for biomedical purpose*, International Journal of Biological Macromolecules, 92 (2016) 645–653. Elsevier
- Arpornmaeklong, P., Suwatwirote, N., Pripatnanont, P., dan Oungbho, K., 2007, Growth and Differentiation of Mouse Osteoblasts on Chitosan-Collagen Sponges, *Int. J. Oral Max. Surg.*, 36(4): 328–337.
- Bedran-Russo,A. K., Pereira, P. N.R., Duarte, W. R., Drummond, J. L., Yamauchi, M. 2007. *Application of Crosslinkers to Dentin Collagen Enhances the Ultimate Tensile Strength*. Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials, 80(1), 268–272.
- Bourtoom T. 2009. *Edible protein films: properties enhancement*. Int Food Res J ;16(1):1–9.
- Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick & Adelberg's *Mikrobiologi Kedokteran*. Terjemahan Mudihardi, dkk dari Medical Microbiology, Jakarta: Medika. 2001 : 79-80.
- Carranza,F. A., Forres,J.L., Kenney, E. B., Klokkevold, P. R., Novak, M. J., Preshaw, P.,..Newman, M. G. 2012. *Carranza's Clinical Periodontology*. (F. A. Carranza, J. L. Forresr,E.B. Kenney, P. R., Klokkevold, M. J., Novak, P. Preshaw, ... M. G. Newman, Eds) (11th ed.). Missouri: Elsevier Inc.

- Cardaropoli, D., & Cardaropoli, G. 2009. *Healing of Gingival Recessions Using a Collagen Membrane with a Demineralized Xenograft: A Randomized Controlled Clinical Trial*. Int J Periodontics Restorative Dent. Feb;29(1):59-67.
- Causa, F., Netti, P.A., and Ambrosio, L. A multi-functional scaffold for tissue regeneration: the need to engineer a tissue analogue. *Biomaterials* **28**, 5093, 2007.
- Chan, H.L., Chun, Y.H., MacEachern, M. 2015. *Does gingival recession require surgical treatment ?*. Dent Clin North Am. 2015 Oktober ; 59(4): 981–996.
- Chem, J. M., Chang, C., Chen, S., & Zhang, L. 2011. *Novel hydrogels prepared via direct dissolution of chitin at low temperature : structure and biocompatibility*, 3865–3871.
- Chrysanthakopoulos, N. A. 2013. *Prevalence and associated factors of gingival recession in Greek adults*, 178–185.
- Croisier, F., & Jérôme, C. 2013. *Chitosan-based biomaterials for tissue engineering*. European Polymer Journal, 49, 780–792.
- Dong, C., & Lv, Y. 2016. *Application of collagen scaffold in tissue engineering: Recent advances and new perspectives*. *Polymers*, 8(2), 1–20.
- E. Hosseinzadeh, M. Davarpanah, N. H. Nemati, and S. A. Tavakoli, “Fabrication of a hard tissue replacement using natural hydroxyapatite derived from bovine bones by thermal decomposition method,” *International Journal of Organ Transplantation Medicine* ,vol.5,no.1,pp.23–31,2014.
- E. Taghiabadi, S. Nasri, S. Shafieyan, S. J. Firoozinezhad, and N. Aghdami, “Fabrication and characterization of spongy denuded amniotic membrane based scaffold for tissue engineering,” *Cell Journal* ,vol.16,no.4,pp.476–487,2015.
- Emilda, Yulie., Budipramana, Els., dan Kuntari, Sariti. 2014. *Uji Sitotoksisitas*

- Ekstrak Bawang Putih (Allium Sativum) Terhadap Kultur Sel Fibroblast*. Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi) Vol. 47 No.4, 215-219.
- Fazwishni S dan Hadjiono Bs. 2000. Uji Sitotoksitas dengan Esei MTT. Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. 7: 28-32.
- Fernandes, L. L., Resende, C. X., Tavares, D. S., Soares, G. A., Castro, L. O., & Granjeiro, J. M. 2011. *Cytocompatibility of chitosan and collagen-chitosan scaffolds for tissue engineering*. *Polímeros*, 21(1), 1–6.
- Fratzl, p. 2008. *Collagen Structure and Mechanic*. Max Planck Institute of Colloids and Interfaces Department of Biomaterials Potsdam Germany; Springer Publisher.
- Glowacki, J., Mizuno, S., 2008. *Collagen Scaffold for Tissue Engineering*. *Biopolymers*, 89:338-44.
- Goktas, S., Dmytryk, J. J., & McFetridge, P. S. 2011. *Biomechanical Behavior of Oral Soft Tissues*. *Journal of Periodontology*, 82(8), 1178–1186.
- Hafner Bob. 2007. *Characterization Facility: Electron Microscopy Primer*. University of Minnesota – Twin Cities.
- Han, F., Dong, Y., Su, Z., Yin, R., Song, A., & Li, S. 2014. Preparation , characteristics and assessment of a novel gelatin – chitosan sponge scaffold as skin tissue engineering material. *International Journal of Pharmaceutics*, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.09.036>
- Hasan, A., Khattab, A., Islam, M. A., Hweij, K. A., Zeitouny, J., Waters, R., Paul, A. 2015. *Injectable Hydrogels for Cardiac Tissue Repair after Myocardial Infarction*, 1–18.
- Hidayati, D. Nisa, Ibrahim Arifin, and Sri Susilowati. 2011. “UJI SITOTOKSITAS FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL HERBALALFA (Medicago sativa L.) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D DAN SEL

- KANKER LEHER RAHIM (Sel HeLa). Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.
- He, Y., & Lu, F. (2016). *Development of Synthetic and Natural Materials for Tissue Engineering Applications Using Adipose Stem Cells*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/5786257>.
- Held, P. 2009. *An Absorbance-Based Cytotoxicity Assay Using High Absorptivity, Watersoluble Tetrazolium Salts*. Application Note. Biotek Instruments, INC., Winooski, Vermont, 05404.
- Hollister, S. Porous scaffold design for tissue engineering. *Nat Mater* **4**, 518, 2005.
- Hoque, M., Nuge,T., Yeow,T *et al.* 2015. *Gelatin Based Scaffold for Tissue Engineering*. *Polymers Research Journal*, Volume 9, Number 1 ISSN: 19352530.
- Ichsan, Miranda Zawazi. 2012. *Sintesis Makroporous Komposit Kolagen-Hidroksiapatit sebagai kandidat Bone Graft*. Program Studi Teknobiomedik, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga : Surabaya.
- Ikeda, Takeshi., Ikeda., Kahori., Yamamoto, Kouhei. *Et al.* 2014. *Fabrication and Characteristics of Chitosan Sponge as a Tissue Engineering Scaffold*. *BioMed Research International*.
- Iradaty, F. 2017. *Peraga Mikrometer Sekrup Braille untuk Siswa Tunanetra.*, 4(1), 71–92. <https://doi.org/10.14421/ijds.040104>.
- Jain Sanjeev, Kaur Harjit, & Aggarwai Ridhi. 2017. *Classification systems of gingival recession: an update*. *Journal of Dental Sciences*; 9: 52-9.
- Khan, R., & Khan, M. 2013. Use of collagen as a biomaterial: An update. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 17(4), 539.
- Kim, U., Park, J., Joo, H., Wada, M., & Kaplan, D. L. 2005. Three-dimensional aqueous-derived biomaterial scaffolds from silk fibroin, *26*, 2775–2785. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.07.044>.

- Khurshid, Z., Zohaib, S., & Qasim, S. B. 2017. *Dental Applications*, (Figure 1), 1–20.
- Khoswanto, C., Arijani, E., & Soesilawati, P. (2008). *Cytotoxicity test of 40 , 50 and 60 % citric acid as dentin conditioner by using MTT assay on culture cell line*, 41(3), 103–106.
- Kmiec, M., Pighinelli, L., Mf, T., Mm, S., & Reis, V. 2017. *Chitosan-Properties and Applications in Dentistry*, 2(4), 1–7.
- Konovalova, M.V.; Markov, P.A.; Durnev, E.A.; Kurek, D.V.; Popov, S.V.; Varlamov, V.P. 2017. *Preparation and biocompatibility evaluation of pectin and chitosan cryogels for biomedical application*. J. Biomed. Mater. Res. Part A 105, 547–556.
- Krismariono, A. (2014). PRINSIP DASAR PERAWATAN ( BASIC PRINCIPLE IN THE TREATMENT, 18(1), 96–100.
- Kristiani, A. 2016. *Hubungan Pengetahuan Kesehatan Gigi dan Mulut dengan Resesi Gusi pada Karyawan Pabrik Konveksi Syahdika Kawalu Kota Tasikmalaya*. Journal ARSA (Actual Research Science Academic) November; 1(1): 42-47.
- Kumar, A., & Masamatti, S. S. 2013. *A new classification system for gingival and palatal recession*, 17(2). 81-175
- Loh, Q.L, and Choong, C. 2013. *Three-dimensional Scaffolds for Tissue Engineering Applications: Role of Porosity and Pore Size*. Tissue Eng Part B Rev 2013; 19(6): 2317-24.
- López Angulo, D. E., & do Amaral Sobral, P. J. 2016. *Characterization of gelatin/chitosan scaffold blended with aloe vera and snail mucus for biomedical purpose*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 645–653.
- Manson dan Eley. 2004. *Periodontics*. London: Elsevier Limited.
- Marsaid, A.L. 2010. *Karakterisasi Sifat Kimia, Fisik dan Termal Ekstraksi Gelatin dari Ikan Tuna ( Thunnus sp ) pada Variasi Larutan Asam untuk Perendaman*. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya.

- Martínez, A., Blanco, M. D., Davidenko, N., & Cameron, R. E. 2015. *Tailoring chitosan/collagen scaffolds for tissue engineering: Effect of composition and different crosslinking agents on scaffold properties*. *Carbohydrate Polymers*, 132, 606–619.
- McCabe. J. F & Walls, A. W. G. 2008. *Applied Dental Materials*. Ninth edition published by Blackwell Publishing Ltd.
- Mighri, N., Mao, J., Mighri, F., Aiji, A., & Rouabhia, M. 2015. *Chitosan-Coated Collagen Membranes Promote Chondrocyte Adhesion, Growth, and Interleukin-6 Secretion*, 7673–7689.
- Miller PD Jr. *A Classification of Marginal Tissue Recession*. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1985;5:8-13.
- Murphy, C. M., Haugh, M. G., & Brien, F. J. O. 2010. *Biomaterials The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen – glycosaminoglycan scaffolds for bone tissue engineering*. *Biomaterials*, 31(3), 461–466. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.09.063>.
- O'Brien, F.J., Harley, B.A., Yannas, I.V. and Gibson L.J. 2005. *The Effect of Pore Size on Cell Adhesion in Collagen-GAG Scaffolds*, *Biomaterials*, 26: 433–441.
- O'Brien Fergel J. 2011. *Biomaterials and Scaffolds for Tissue Engineering*. *Materials Today* Vol. 14, No 3 ISSN:13697021 Elseiver Ltd.
- Ouasti, Sihem, Roberto Donno, Francesco Cellesi, Michael J. Sherratt, Giorgio Terenghi, Nicola Tirelli. 2011. *Network Connectivity, Mechanical Properties And Cell Adhesion For Hyaluronic Acid/PEG Hydrogels*. *Biomaterials* 32, 6456e6470.
- Pagliaro, M dan Rossi, M. 2008. *The Future of Glycerol: New Uses of a Versatile Raw Material*. A product of Royal Society of Chemistry.

- G Prato Pipi . 2011. *The Miller Classification of gingival recession; limits and drawbacks*. J Clin Periodontal; 17: 243-5.
- Peng L. Cheng, Xiang Rong. Wang, Jia Wei. Xu, Xuan Dong. Wang, Ge. 2006. *Preparation and Evaluation of Porous Chitosan/Collagen Scaffolds for Periodontal Tissue Engineering*. Journal of Biactive and Compatible Polymer. Vol. 21, 207.
- Phang, M. J, Pandhare J, Liu Y. 2009. *The Metabolism of Proline as Microenvironmental Stress Substrate*. J Nutr. October; 138(10): 2008S–2015S.
- Pradeep, K., Rajababu, P., Satyanarayana, D., & Sagar, V. 2012. *Case Report Gingival Recession : Review and Strategies in Treatment of Recession*, 1–7.
- Pratiwi, D. 2007. *Gigi Sehat*. Jakarta:PT. Kompas Media Indonesia.
- Riset Kesehatan Dasar. 2013. *Laporan Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Badan Litbangkes, Depkes RI.
- Rosdianai, A. F., and et al. 2017. *Synthesis and Characterization Biocomposite Collagen-Chitosan- Glycerol as Scaffold for Gingival Recession Therapy*. Journal of International Dental and Medical Research. Volume 10, 118-122.
- Salerno, A., Di Maio, E., Iannace, S., and Netti, P. Tailoring the pore structure of PCL scaffolds for tissue engineering prepared via gas foaming of multi-phase blends. Journal of Porous Materials **19**, 181, 2012.
- Sarasam, A.R.; Brown, P.; Khajotia, S.S.; Dmytryk, J.J.; Madihally, S.V. 2008. *Antibacterial activity of chitosan-based matrices on oral pathogens*. J. Mater. Sci. Mater. Med. Vol 19, 1083–1090.
- Sartika, Dewi. 2013. *Pengaruh Penambahan Plasticizer Gliserol Terhadap Karakteristik Hidrogel Kitosan-Glutaraldehyd untuk Aplikasi Penutup Luka*, Skripsi, Jurusan Fisika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga: Surabaya.

- Saska, Sybele., Teixeira, Lucas Novaes., De Olivera, Paulo Tambasco., *et all.* 2012. *Bacterial cellulose-collagen nanocomposite for bone tissue engineering*. Journal of Materials Chemistry. Vol 22, 22102-22112.
- Scheid, R. C., dan Weiss, G., 2013. *Wolefl Anatomia Gigi*, CV. EGC, Jakarta.
- Selpiana, Patricia, & Anggraeni, C. P. (2016). PENGARUH PENAMBAHAN KITOSAN DAN GLISEROL PADA PEMBUATAN BIOPLASTIK DARI AMPAS TEBU DAN AMPAS TAHU. *Jurnal Teknik Kimia* No.1, Vol.22 : 57-64.
- Setiani, Wini., Sudiarti, Tety., dan Rahmidar, Lena. 2013. *Preparasi Dan Karakterisasi Edible Film dari Poliblend Pati Sukun-Kitosan*. Valensi Vol. 3 No. 2 (100-109).
- Shoulders, M. D., & Raines, R. T. 2009. *Collagen Structure and Stability*. *Annu Rev Biochem.* Vol (78): 929-58.
- Singh, P., Benjakul, S., Maqsood, S., and Kishimura, H. 2011. *Isolation and Characterization of Collagen Extracted from The Skin of Striped Catfish (Pangasianodon Hypophthalmus)*. *Food Chemistry* 124; 97-105. Thailand.
- Sivashankari, P. R., & Prabakaran, M. 2016. *Prospects of chitosan-based scaffolds for growth factor release in tissue engineering*. *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 93, 1382–1389.
- Soheilifar, S., Bidgoli, M., Faradmali, J., & Soheilifar, S. 2015. Effect of Periodontal Dressing on Wound Healing and Patient Satisfaction Following Periodontal Flap Surgery. *J Dent (Tehran)*, 12(2), 151–156.
- Su, Yongzhuang. 2014. *Cancer Chemosensitivity Testing: Review*, Cerritos, USA: Scientific Research.
- Suryono. 2014. *Bedah Dasar Periodonsia*. Ed.1, Cet.3. Yogyakarta: Deepublish, Januari.

- Szot, C. S., Buchanan, C. F., Freeman, J. W., & Rylander, M. N. 2011. *3D in vitro bioengineered tumors based on collagen I hydrogels*. *Biomaterials*, 32 (31), 7905–7912.
- Tan, W.; Krishnaraj, R. & Desai, T. A. 2001. *Evaluation of Nanostructured Composite Collagen – Chitosan Matrices for Tissue Engineering*. 7(2) p.203.
- Theodore M. Roberson, Horald O Heyman, Andre V Ritter. 2006. *Introduction to Composite Restoration. In sturdevant et al. The Art and Science of Operative Dentistry*. 4th ed. Mosby. St.Louis. 497-508.
- Vukelic, M., Mitic, Z Et Al., 2011. *Interaction Of Biomaterials Containing Calcium Hydroxyapatite/ Poly-L-Lactide With The Simulated Body Fluid*. *Acta Medica Medianae*.,50 (4), 35-39.
- Warastuti Yessy, Suryani Nani. 2013. *Karakteristik Degradasi dari Biomaterial Poli- (kaprolakton-kitosan-hidroksiapatit) Iradiasi Dalam Larutan Simulated Body Fluid*. Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, BATAN: Jakarta Selatan.
- Wardhani, R.A.K. 2012. *Sintesis dan Karakteristik Bioselulosa-Kitosan dengan Penambahan Gliserol sebagai Plasticizer*. Surabaya: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.
- Widiyanti, P., Setyadi, E. D., & Rudyardjo, D. I. (2017). *Collagen-Chitosan Scaffold - Lauric Acid Plasticizer for Skin Tissue Engineering on Burn Cases, 020013*. <https://doi.org/10.1063/1.4976765>.
- Wongwitwichot, P., Kaewsrichan, J., H. Chua, K., & H. I. Ruszymah, B. 2010. *Comparison of TCP and TCP/HA Hybrid Scaffolds for Osteoconductive Activity*. *The Open Biomedical Engineering Journal*, 4(1), 279–285.
- X. Liu, J. M. Holzwarth, and P. X. Ma, “*Functionalized synthetic biodegradable polymer scaffolds for tissue engineering*,” *Macromolecular Bioscience*, vol.12, no.7, pp.911–919,2012.

Y. Li, H. Meng, Y. Liu, and B. P. Lee, “*Fibrin gel as an injectable biodegradable scaffold and cell carrier for tissue engineering*,” *The Scientific World Journal*, vol.2015, ArticleID685690, 10 pages, 2015.

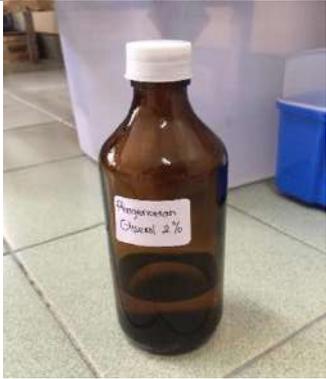
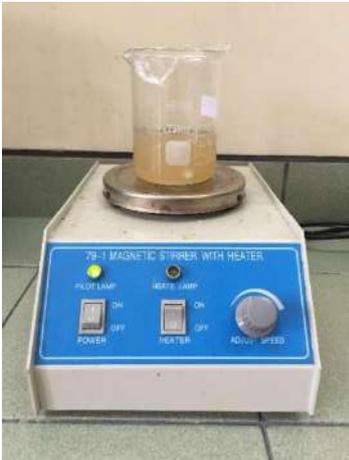
Zhu, Y., Liu, A. T., Song, A. K., & Jiang, A. B. (2009). *Collagen – chitosan polymer as a scaffold for the proliferation of human adipose tissue-derived stem cells*, 799–808. <https://doi.org/10.1007/s10856-008-3636-6>.

LAMPIRAN

Lampiran 1

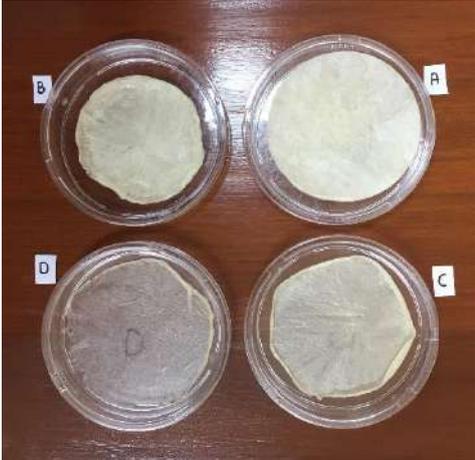
Persiapan bahan

	<p>Kolagen komersial yang diperoleh dari PT. Biochitosan Indonesia.</p>
	<p>Pelarut yang digunakan untuk melarutkan kolagen yaitu asam sitrat</p>
	<p>Kitosan yang diperoleh dari Sigma Aldrich.</p>
	<p>Pelarut yang digunakan untuk melarutkan kitosan yaitu asam asetat.</p>

	<p>Gliserol komersial yang didapatkan dari PT. SIP klampis.</p>
	<p>Proses saat melarutkan kolagen dengan pelarutnya yaitu asam sitrat.</p>
	<p>Proses saat melarutkan kitosan dengan pelarutnya yaitu asam asetat.</p>

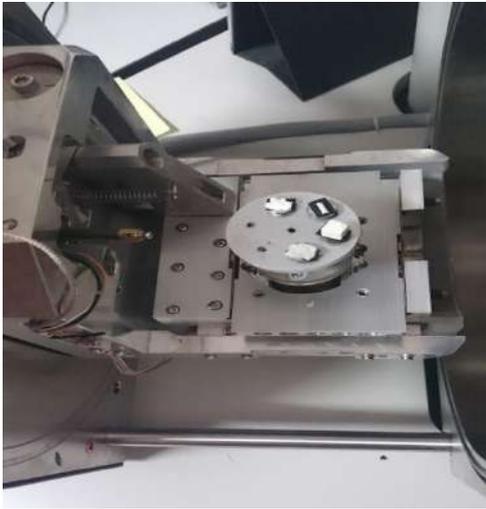
## Lampiran 2

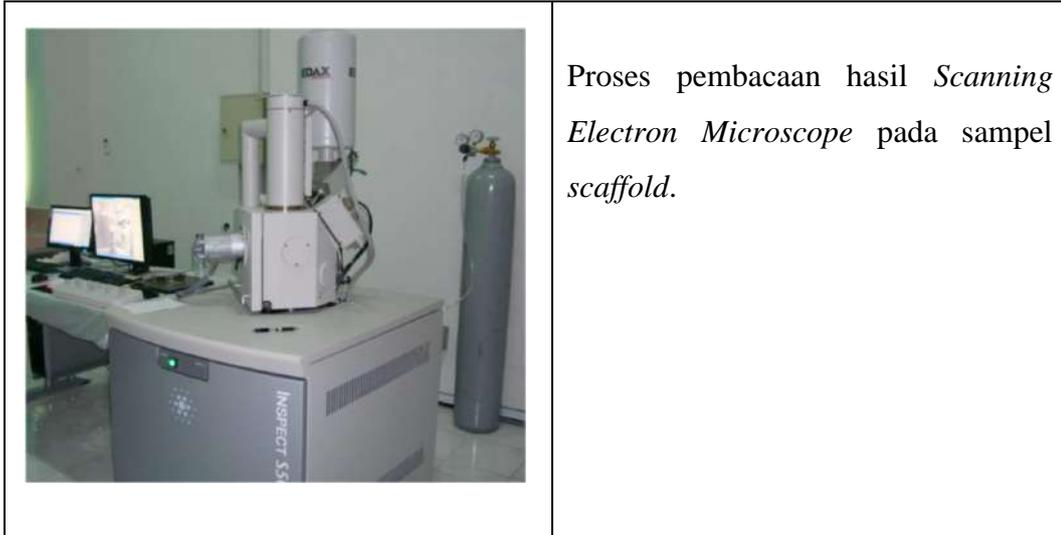
## Hasil sintesis

	<p>Larutan kolagen-kitosan-giserol yang telah distier hingga homogen.</p>
	<p>Proses <i>Freeze Dry</i></p>
	<p>Hasil <i>scaffold</i> yang diperoleh setelah dilakukan pengeringan dengan metode <i>freezedry</i>.</p>

## Lampiran 3

## Proses Uji Morfolgi

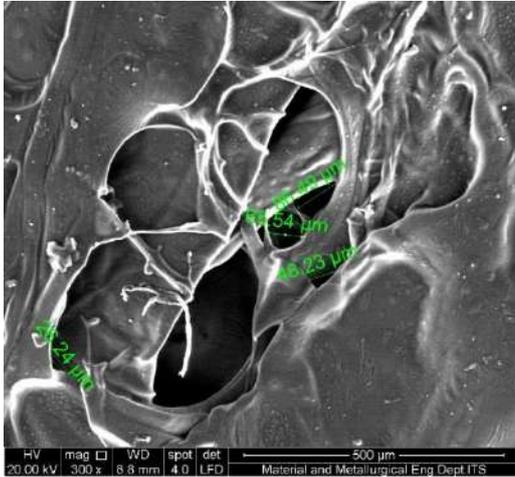
	<p>Mesin dengan merk quorum yang digunakan untuk meng<i>coating</i> sampel dengan Au (proses <i>coating</i>)</p>
	<p>Hasil sampel yang telah <i>dicoating</i> dengan Au</p>
	<p>Mesin <i>scanning electron microscopy</i> yang digunakan untuk memvakum sampel sebelum dilakukan proses pembacaan</p>



Lampiran 4

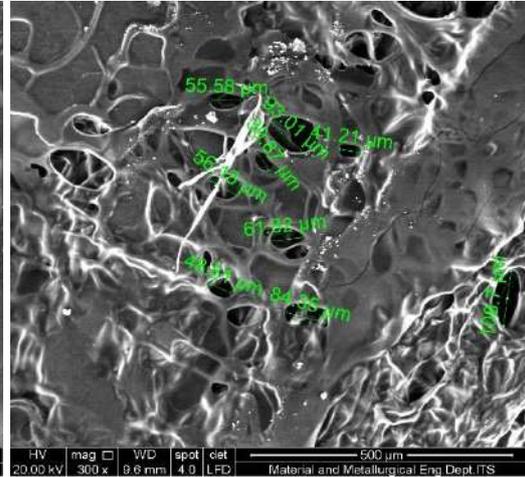
Hasil Uji Morfologi

Hasil pengukuran ukuran pori



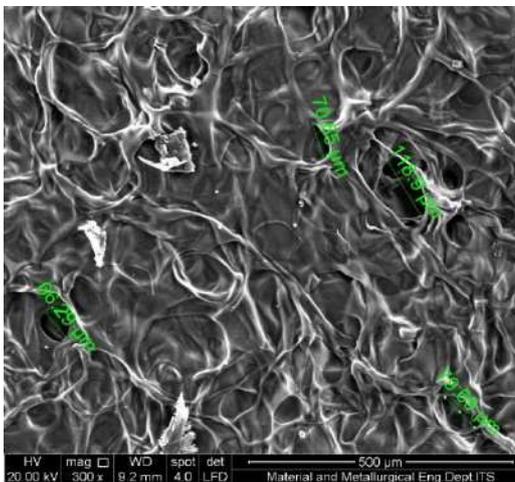
Sampel A (6:4:2)

Hasil pengukuran ukuran pori



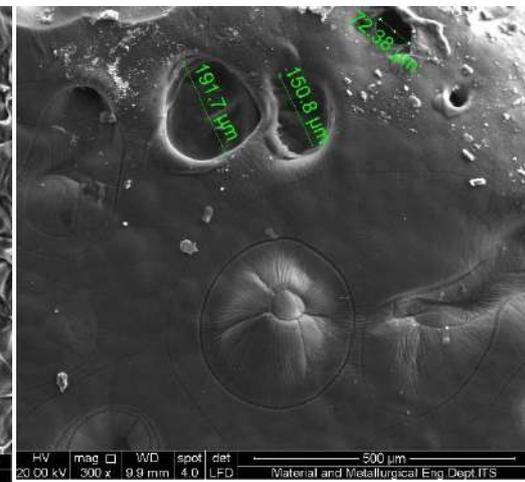
Sampel B (7:3:2)

Hasil pengukuran ukuran pori



Sampel C (8:2:2)

Hasil pengukuran ukuran pori

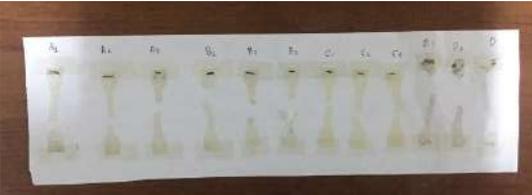


Sampel D (9:1:2)

## Lampiran 5

## Proses Uji Tarik

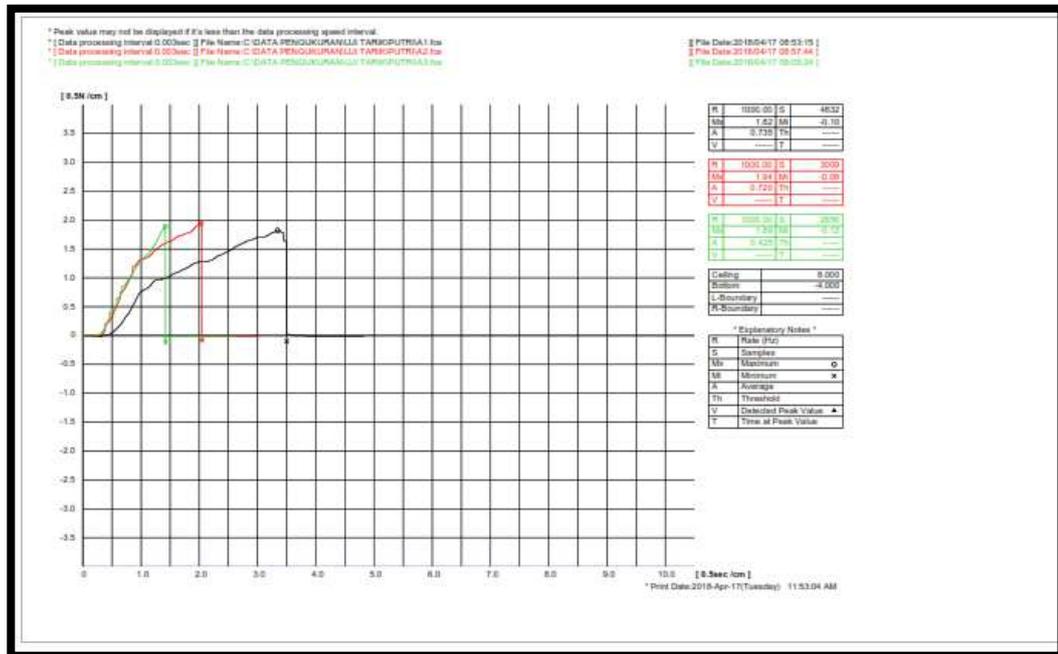
	<p>Pemotongan sampel sesuai dengan standar untuk Uji Tarik berbentuk <i>dumbell</i>.</p>
	<p>Alat yang digunakan untuk Uji Tarik.</p>
	<p>Proses saat pengukuran tebal sampel sebelum dilakukan Uji Tarik menggunakan alat <i>coating thickness gauge</i> tipe TT 210.</p>

	<p>Proses saat penarikan sampel dan mengolah data menggunakan komputer yang terpasang menjadi satu.</p>
	<p>Sampel yang telah mengalami perpatahan setelah perlakuan Uji Kuat Tarik</p>

Lampiran 4

Hasil Uji Tarik

1. Sampel A (6:4:2)



Sampel	Perulangan	F (N)
A	1	1,82
	2	1,94
	3	1,89

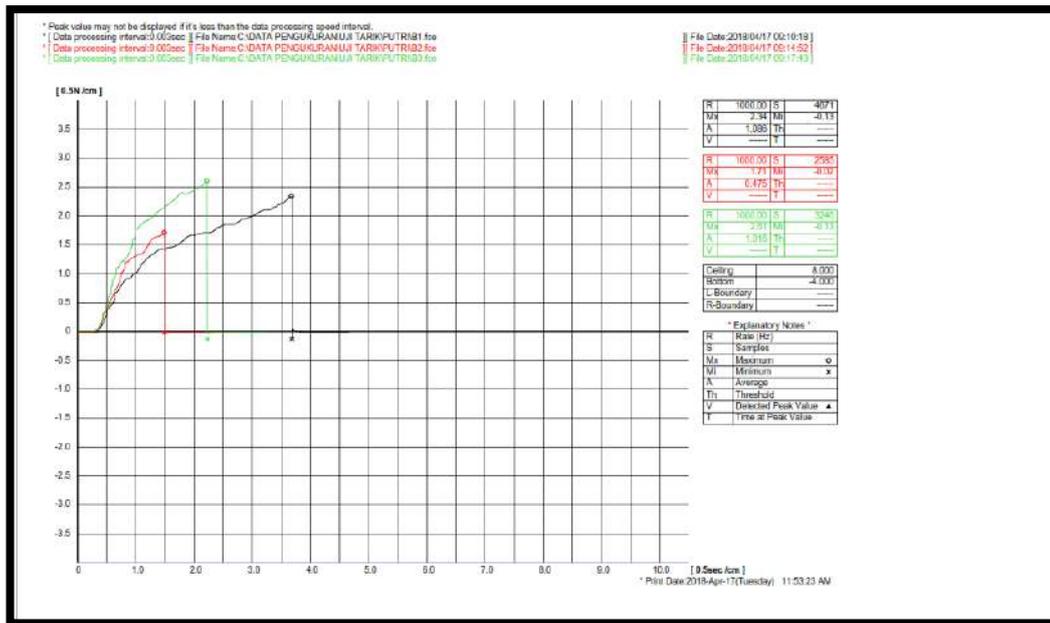
Sampel	Rata-rata F	A	UTS
A	1,88	0,23	8,17

$$\sigma = \frac{F}{A}$$

$$\sigma = \frac{1,88}{0,23}$$

$$\sigma = 8,17 \text{ MPa}$$

2. Sampel B (7:3:2)



Sampel	Perulangan	F (N)
B	1	2,34
	2	1,71
	3	2,61

Sampel	Rata-rata F	A	UTS
B	2,22	0,28	7,93

$$\sigma = \frac{F}{A}$$

$$\sigma = \frac{2,22}{0,28}$$

$$\sigma = 7,93 \text{ MPa}$$

3. Sampel C (8:2:2)



Sampel	Perulangan	F (N)
C	1	2,06
	2	2,42
	3	2,61

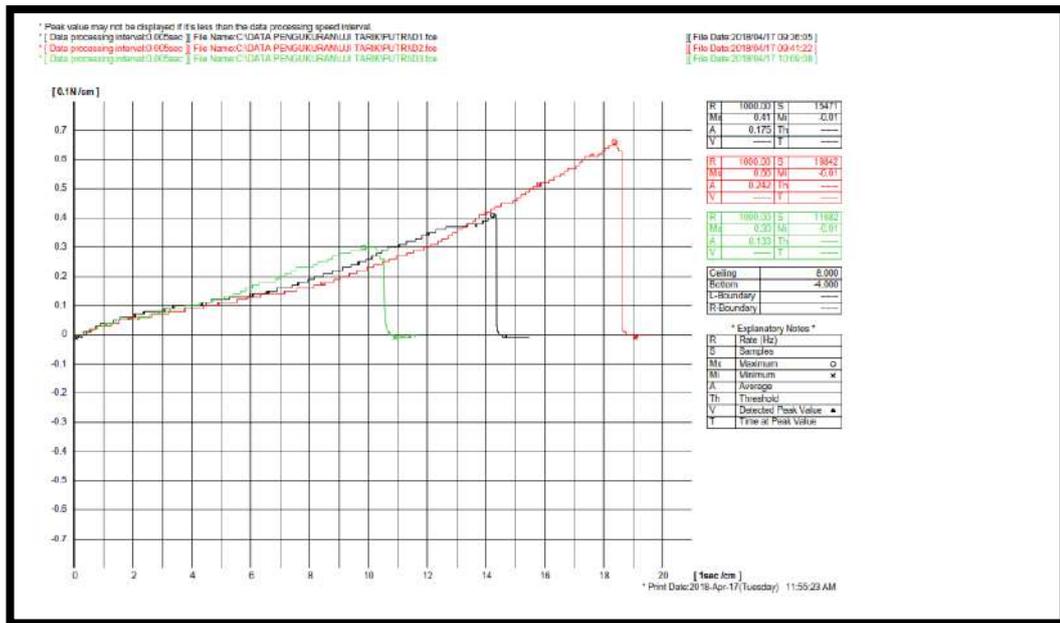
Sampel	Rata-rata F	A	UTS
C	2,36	0,41	5,73

$$\sigma = \frac{F}{A}$$

$$\sigma = \frac{2,36}{0,41}$$

$$\sigma = 5,73 \text{ MPa}$$

4. Sampel D (9:1:2)



Sampel	Perulangan	F (N)
D	1	0,41
	2	0,66
	3	0,30

Sampel	Rata-rata F	A	UTS
B	0,47	0,16	2,87

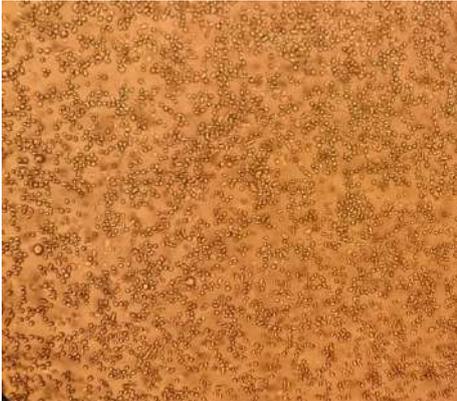
$$\sigma = \frac{F}{A}$$

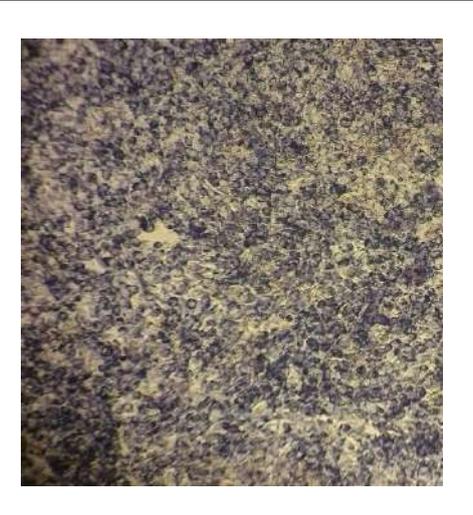
$$\sigma = \frac{0,47}{0,16}$$

$$\sigma = 2,87 \text{ MPa}$$

## Lampiran 5

## Proses Uji Sitotoksitas

	<p>Mempersiapkan sel BHK-21 yang akan digunakan dan dikeluarkan dari inkubator.</p>
	<p>Memasukkan sel BHK-21 dengan media <i>Eagle</i> kedalam <i>96-microwell plate</i></p>
	<p>Melihat sel yang telah ditambahkan media <i>Eagle</i> menggunakan mikroskop.</p>

	<p>Pencucian <i>microplate</i> dengan cara membuang media dan dibersihkan dengan larutan PBS.</p>
	<p>Penambahan reagen MTT untuk pembacaan sel yang hidup.</p>
	<p>Melihat keadaan sel setelah diberikan perlakuan penambahan MTT dengan menggunakan mikroskop.</p>

	<p>Diberikan perlakuan penambahan DMSO.</p>
	<p>Dilakukan <i>shaker</i> agar semua teraduk secara homogen sebelum dilakukan pembacaan.</p>
	<p>Pembacaan sel hidup dengan menggunakan metode <i>Elisa Reader</i> sehingga diperoleh data untuk mengetahui persentase sel yang hidup.</p>

Lampiran 6

Hasil Uji Toksisitas

OD Kontrol Media

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.056	0.059	0.061	0.058	0.06	0.06	0.066	0.064	0.066	0.054	0.053	0.054
B	0.641	0.425	0.127	0.647	0.453	0.562	0.481	0.606	0.554	0.399	0.106	0.085
C	0.641	0.568	0.447	0.666	0.517	0.618	0.528	0.605	0.528	0.364	0.091	0.093
D	0.669	0.567	0.555	0.09	0.511	0.474	0.501	0.589	0.572	0.427	0.101	0.079
E	0.758	0.7	0.771	0.104	0.155	0.209	0.148	0.123	0.114	0.084	0.098	0.107
F	0.615	0.75	0.683	0.124	0.244	0.213	0.162	0.137	0.118	0.09	0.095	0.097
G	0.633	0.652	0.659	0.121	0.297	0.187	0.127	0.133	0.088	0.087	0.1	0.092
H	0.061	0.072	0.069	0.082	0.084	0.075	0.075	0.069	0.07	0.059	0.056	0.057

OD Kontrol Media

## Lampiran 7

## Hasil Perhitungan Presentase Hidup sel

OD Kontrol Sampel			
Sampel A (6:4:2)	Sampel B (7:3:2)	Sampel C (8:2:2)	Sampel D (9:1:2)
0,106	0,098	0,085	0,107
0,091	0,095	0,093	0,097
0,101	0,1	0,079	0,092
Rerata = 0,099	Rerata = 0,086	Rerata = 0,098	Rerata = 0,099

Rerata Kontrol Media	0,059
Rerata Kontrol Sel	0,660

$$\% \text{ Sel Hidup} = \frac{OD \text{ Kontrol Sampel} - OD \text{ Kontrol Media}}{OD \text{ Kontrol Sel} - OD \text{ Kontrol Media}} \times 100 \%$$

## Sampel A

$$\% \text{ Sel Hidup} = \frac{0,099 - 0,059}{0,660 - 0,059} \times 100 \% = 6,66 \%$$

## Sampel B

$$\% \text{ Sel Hidup} = \frac{0,086 - 0,059}{0,660 - 0,059} \times 100 \% = 4,50 \%$$

## Sampel C

$$\% \text{ Sel Hidup} = \frac{0,098 - 0,059}{0,660 - 0,059} \times 100 \% = 6,48 \%$$

## Sampel D

$$\% \text{ Sel Hidup} = \frac{0,099 - 0,059}{0,660 - 0,059} \times 100 \% = 6,66 \%$$

## Lampiran 8

## Proses Uji Degradasi

	<p>Pemotongan sampel dengan ukuran 1x1 cm.</p>
	<p>Proses penimbangan sebelum diuji degradasi.</p>
	<p>Sampel dengan ukuran 1x1 cm dimasukkan ke dalam wadah yang telah diisi dengan larutan PBS.</p>

	<p>Proses perendaman untuk perlakuan uji degradasi dengan waktu selama 7 hari dan 14 hari dan dimasukkan ke dalam oven bersuhu 37°.</p>
	<p>Proses penimbangan setelah diuji degradasi.</p>

## Lampiran 9

## Hasil Uji Degradasi

Tabel hasil berat awal ( $w_0$ ), berat akhir ( $w_t$ ), dan hasil persentase mass loss *scaffold* kolagen-kitosan-gliserol selama 7 hari

Sampel	Hari ke-7		Mass Loss (100%)
	$W_0$ (g)	$W_t$ (g)	
A	0,1009	0,0483	52,13
B	0,1060	0,0431	59,34
C	0,1021	0,0274	73,16
D	0,0928	0,0127	86,31

Tabel hasil berat awal ( $w_0$ ), berat akhir ( $w_t$ ), dan hasil persentase mass loss *scaffold* kolagen-kitosan-gliserol selama 14 hari.

Sampel	Hari ke-14		Mass Loss (100%)
	$W_0$ (g)	$W_t$ (g)	
A	0,1041	0,0389	62,63
B	0,0918	0,0213	76,80
C	0,1119	0,0127	88,65
D	0,0956	0	100

$$\% \text{ Mass Loss} = \left| \frac{W_0 - W_t}{W_0} \right| \times 100 \%$$

Perhitungan Uji Degradasi hari ke-7 :

1. Sampel A (6:4:2)

$$\% \text{ Mass Loss} = \left| \frac{0,1009 - 0,0438}{0,1009} \right| \times 100 \% = 52,13\%$$

2. Sampel B (7:3:2)

$$\% \text{ Mass Loss} = \left| \frac{0,1060 - 0,0431}{0,1060} \right| \times 100 \% = 59,34 \%$$

3. Sampel C (8:2:2)

$$\% \text{ Mass Loss} = \left| \frac{0,1021 - 0,0274}{0,1021} \right| \times 100 \% = 73,16 \%$$

4. Sampel D (9:1:2)

$$\% \text{ Mass Loss} = \left| \frac{0,0928 - 0,0127}{0,0928} \right| \times 100 \% = 86,13 \%$$

Perhitungan Uji Degradasi hari ke-14 :

1. Sampel A (6:4:2)

$$\% \text{ Mass Loss} = \left| \frac{0,1041 - 0,0389}{0,1041} \right| \times 100 \% = \%$$

2. Sampel B (7:3:2)

$$\% \text{ Mass Loss} = \left| \frac{0,0918 - 0,0213}{0,0918} \right| \times 100 \% = 76,80 \%$$

3. Sampel C (8:2:2)

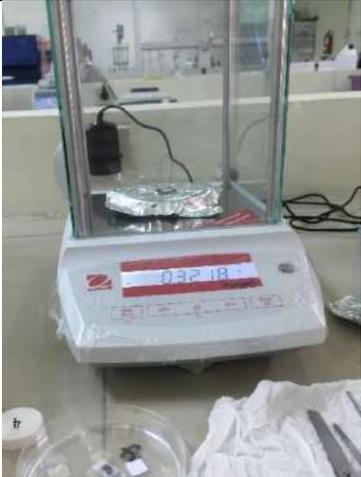
$$\% \text{ Mass Loss} = \left| \frac{0,1119 - 0,0127}{0,1119} \right| \times 100 \% = 88,65 \%$$

4. Sampel D (9:1:2)

$$\% \text{ Mass Loss} = \left| \frac{0,0956 - 0}{0,0956} \right| \times 100 \% = 100 \%$$

## Lampiran 10

Proses Uji *Swelling*

	<p>Pemotongan sampel dengan ukuran 1x1 cm.</p>
	<p>Proses penimbangan sebelum diuji <i>swelling</i>.</p>
	<p>Proses perendaman untuk perlakuan uji <i>swelling</i> dengan waktu selama 1 menit, 2 menit, 3 menit, 4 menit, 5 menit, 6 menit, 7 menit, 8 menit, 9 menit, dan 10 menit.</p>
	<p>Proses penimbangan sampel setelah perlakuan uji <i>swelling</i>.</p>

## Lampiran 11

Hasil Uji *Swelling*

Sampel	Sampel	Waktu	Wo (g)	We (g)	Esw (100%)
A	A1	1 menit	0,3612	0,4182	15,78
	A2	2 menit	0,3343	0,4019	20,22
	A3	3 menit	0,3395	0,4167	22,74
	A4	4 menit	0,3436	0,4329	25,99
	A5	5 menit	0,3431	0,4389	27,92
	A6	6 menit	0,3218	0,4258	32,32
	A7	7 menit	0,3125	0,4198	34,34
	A8	8 menit	0,3466	0,4643	33,96
	A9	9 menit	0,3438	0,4468	29,96
	A10	10 menit	0,3435	0,4329	26,03
B	B1	1 menit	0,3538	0,4106	16,05
	B2	2 menit	0,3605	0,4289	18,97
	B3	3 menit	0,3435	0,4288	24,83
	B4	4 menit	0,3473	0,4492	29,34
	B5	5 menit	0,3473	0,4563	31,38
	B6	6 menit	0,3618	0,4798	32,61
	B7	7 menit	0,3499	0,4712	34,67
	B8	8 menit	0,3454	0,4621	33,79
	B9	9 menit	0,3435	0,4488	30,66
	B10	10 menit	0,3499	0,4482	28,09
C	C1	1 menit	0,3540	0,4146	17,12
	C2	2 menit	0,3530	0,4201	19,01
	C3	3 menit	0,3520	0,4382	24,49
	C4	4 menit	0,3453	0,4447	28,79
	C5	5 menit	0,3475	0,4583	31,88
	C6	6 menit	0,3541	0,4712	33,07
	C7	7 menit	0,3530	0,4756	34,73
	C8	8 menit	0,3481	0,4657	33,78
	C9	9 menit	0,3480	0,4485	28,88
	C10	10 menit	0,3577	0,4488	25,47
	D1	1 menit	0,3461	0,4287	23,87
	D2	2 menit	0,3635	0,4564	25,56
	D3	3 menit	0,3418	0,4416	29,20
	D4	4 menit	0,3418	0,4527	32,45

D	D5	5 menit	0,3461	0,4659	34,61
	D6	6 menit	0,3630	0,4919	35,51
	D7	7 menit	0,3518	0,4791	36,19
	D8	8 menit	0,3621	0,4857	34,13
	D9	9 menit	0,3686	0,4883	32,47
	D10	10 menit	0,3597	0,4576	27,22

$$E_{sw} = \frac{W_e - W_o}{W_o} \times 100 \%$$

Sampel A

- (Menit ke-1)

$$E_{sw} = \frac{0,4182 - 0,3612}{0,3612} \times 100 \% = 15,78 \%$$

- (Menit ke-2)

$$E_{sw} = \frac{0,4019 - 0,3343}{0,3343} \times 100 \% = 20,22 \%$$

- (Menit ke-3)

$$E_{sw} = \frac{0,4167 - 0,3395}{0,3395} \times 100 \% = 22,74 \%$$

- (Menit ke-4)

$$E_{sw} = \frac{0,4329 - 0,3436}{0,3436} \times 100 \% = 25,99 \%$$

- (Menit ke-5)

$$E_{sw} = \frac{0,4389 - 0,3431}{0,3431} \times 100 \% = 27,92 \%$$

- (Menit ke-6)

$$E_{sw} = \frac{0,4258 - 0,3218}{0,3218} \times 100 \% = 32,32 \%$$

- (Menit ke-7)

$$E_{sw} = \frac{0,4198 - 0,3125}{0,3125} \times 100 \% = 34,34 \%$$

- (Menit ke-8)

$$E_{sw} = \frac{0,4643 - 0,3466}{0,3466} \times 100 \% = 33,96 \%$$

- (Menit ke-9)

$$E_{sw} = \frac{0,4468 - 0,3438}{0,3438} \times 100 \% = 29,96 \%$$

- (Menit ke-10)

$$E_{sw} = \frac{0,4329 - 0,3435}{0,3435} \times 100 \% = 26,03 \%$$

#### Sampel B

- (Menit ke-1)

$$E_{sw} = \frac{0,4106 - 0,3538}{0,3538} \times 100 \% = 16,05 \%$$

- (Menit ke-2)

$$E_{sw} = \frac{0,4289 - 0,3605}{0,3605} \times 100 \% = 18,97 \%$$

- (Menit ke-3)

$$E_{sw} = \frac{0,4288 - 0,3435}{0,3435} \times 100 \% = 24,83 \%$$

- (Menit ke-4)

$$E_{sw} = \frac{0,4492 - 0,3473}{0,3473} \times 100 \% = 29,34 \%$$

- (Menit ke-5)

$$E_{sw} = \frac{0,4563 - 0,3473}{0,3473} \times 100 \% = 31,38 \%$$

- (Menit ke-6)

$$E_{sw} = \frac{0,138 - 0,009}{0,009} \times 100 \% = 32,61 \%$$

- (Menit ke-7)

$$E_{sw} = \frac{0,4712 - 0,3499}{0,3499} \times 100 \% = 34,67 \%$$

- (Menit ke-8)

$$E_{sw} = \frac{0,4621 - 0,3454}{0,3454} \times 100 \% = 33,79 \%$$

- (Menit ke-9)

$$E_{sw} = \frac{0,4488 - 0,3435}{0,3435} \times 100 \% = 30,66 \%$$

- (Menit ke-10)

$$E_{sw} = \frac{0,4482 - 0,3499}{0,3499} \times 100 \% = 28,09 \%$$

#### Sampel C

- (Menit ke-1)

$$E_{sw} = \frac{0,4146 - 0,3540}{0,3540} \times 100 \% = 17,12 \%$$

- (Menit ke-2)

$$E_{sw} = \frac{0,4201 - 0,3530}{0,3530} \times 100 \% = 19,01\%$$

- (Menit ke-3)

$$E_{sw} = \frac{0,4382 - 0,3520}{0,3520} \times 100 \% = 24,49 \%$$

- (Menit ke-4)

$$E_{sw} = \frac{0,4447 - 0,3453}{0,3453} \times 100 \% = 28,79 \%$$

- (Menit ke-5)

$$E_{sw} = \frac{0,4538 - 0,3475}{0,3475} \times 100 \% = 31,88 \%$$

- (Menit ke-6)

$$E_{sw} = \frac{0,4712 - 0,3541}{0,3541} \times 100 \% = 33,07 \%$$

- (Menit ke-7)

$$E_{sw} = \frac{0,4756 - 0,3530}{0,3530} \times 100 \% = 34,73 \%$$

- (Menit ke-8)

$$E_{sw} = \frac{0,4657 - 0,3481}{0,3481} \times 100 \% = 33,78 \%$$

- (Menit ke-9)

$$E_{sw} = \frac{0,4485 - 0,3480}{0,3480} \times 100 \% = 28,88 \%$$

- (Menit ke-10)

$$E_{sw} = \frac{0,4488 - 0,3577}{0,3577} \times 100 \% = 25,47 \%$$

Sampel D

- (Menit ke-1)

$$E_{sw} = \frac{0,4287 - 0,3416}{0,3416} \times 100 \% = 23,87 \%$$

- (Menit ke-2)

$$E_{sw} = \frac{0,4564 - 0,3635}{0,3635} \times 100 \% = 25,56 \%$$

- (Menit ke-3)

$$E_{sw} = \frac{0,4416 - 0,3418}{0,3418} \times 100 \% = 29,20 \%$$

- (Menit ke-4)

$$E_{sw} = \frac{0,4527 - 0,3418}{0,3418} \times 100 \% = 32,45 \%$$

- (Menit ke-5)

$$E_{sw} = \frac{0,4659 - 0,3461}{0,3461} \times 100 \% = 34,61 \%$$

- (Menit ke-6)

$$E_{sw} = \frac{0,4919 - 0,3630}{0,3630} \times 100 \% = 35,51 \%$$

- (Menit ke-7)

$$E_{sw} = \frac{0,4791 - 0,3518}{0,3518} \times 100 \% = 36,19 \%$$

- (Menit ke-8)

$$E_{sw} = \frac{0,4857 - 0,3621}{0,3612} \times 100 \% = 34,13 \%$$

- (Menit ke-9)

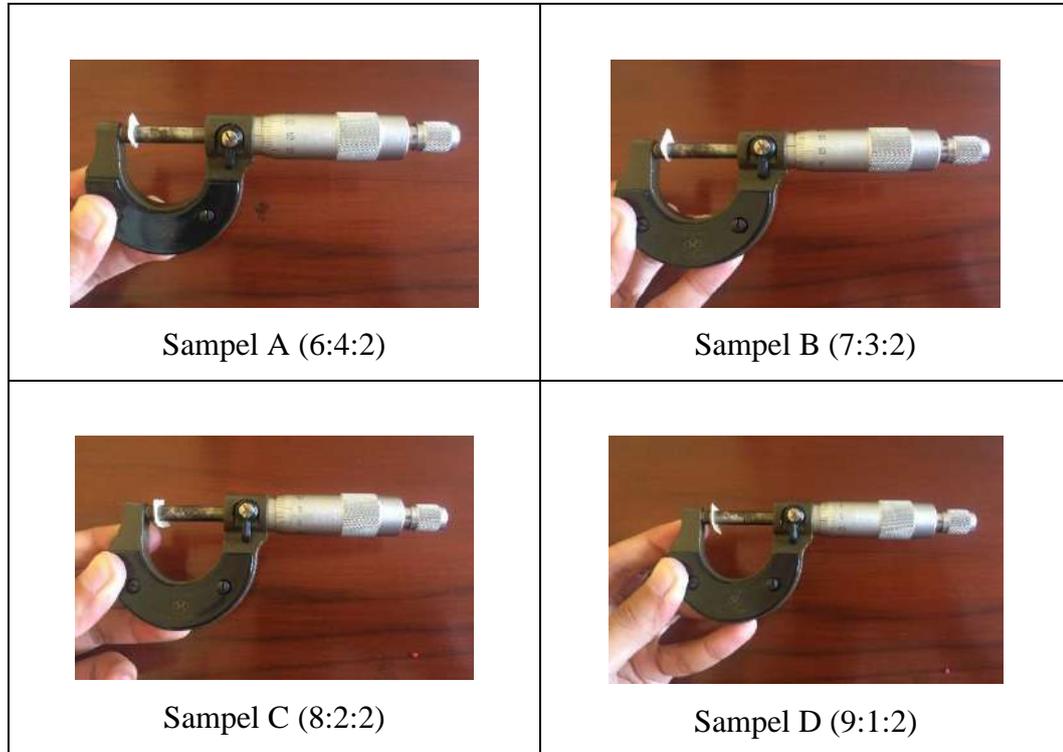
$$E_{sw} = \frac{0,4883 - 0,3686}{0,3686} \times 100 \% = 32,47 \%$$

- (Menit ke-10)

$$E_{sw} = \frac{0,4576 - 0,3597}{0,3597} \times 100 \% = 27,22 \%$$

## Lampiran 12

## Hasil Uji Ketebalan



Skala terkecil pada micrometer sekrup = 0,01

Ketidakpastian :  $\Delta t = \frac{1}{2} \times 0,01 = 0,005$

Perhitungan Uji Ketebalan

$$d = \text{Skala utama} + \text{Skala putar (Skala nonius)}$$

1. Sampel A ( 6:4:2 )

$$d = 0,5 \text{ mm} + (15 \times 0,01) \text{ mm}$$

$$= 0,65 \text{ mm}$$

2. Sampel B ( 7:3:2 )

$$d = 0,5 \text{ mm} + (12 \times 0,01) \text{ mm}$$

$$= 0,62 \text{ mm}$$

3. Sampel C ( 8:2:2 )

$$d = 0,5 \text{ mm} + (5 \times 0,01) \text{ mm}$$

$$= 0,55 \text{ mm}$$

4. Sampel D ( 9:1:2 )

$$d = 0,5 \text{ mm} + (1 \times 0,01) \text{ mm}$$

$$= 0,51 \text{ mm}$$