

KARYA TULIS ILMIAH

**PERBEDAAN PROFIL DEGRADASI PERANCAH KORAL
BUATAN BERBAGAI KONSENTRASI PADA
MEDIUM KULTUR SEL**

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Memperoleh
Derajat Sarjana Kedokteran pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta



**Disusun Oleh:
DWI RIZKY LESTARI
20110340004**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA**

2014

HALAMAN PENGESAHAN KTI
PERBEDAAN PROFIL DEGRADASI PERANCAH
KORAL BUATAN BERBAGAI KONSENTRASI
PADA MEDIUM KULTUR SEL

Disusun Oleh :
DWI RIZKY LESTARI
20110340004

Telah disetujui dan diseminarkan pada tanggal :
Desember 2014

Dosen Pembimbing

Dosen Penguji

Drg. Erlina Sih Mahanani, M.Kes
NIK : 173067

Drg. Dwi Suhartiningtyas
NIK :

Mengetahui

Kaprosdi Pendidikan Dokter Gigi FKIK
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

drg. Hastoro Pintadi, Sp. Prost
NIK. 173071

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini

Nama : Dwi Rizky Lestari

NIM : 20110340004

Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi

Fakultas : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Karya Tulis Ilmiah yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil sendiri dan belum pernah diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dalam karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka dibagian akhir Karya Tulis Ilmiah ini.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan Karya Tulis Ilmiah ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Yogyakarta, 2014

Yang membuat pernyataan,

Tanda tangan

Dwi Rizky Lestari

MOTTO

Tidak pernah ada perjuangan yang sia-sia

Hadapilah segala sesuatunya, karena waktu tidak akan pernah menunggu hingga kita siap. Dan bersiaplah untuk hal yang paling buruk sekalipun

Sesungguhnya setelah kesulitan ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan) maka kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain dan hanya kepada Tuhanmu hendaknya kamu berharap (QS. Al-Insyirah 6-8)

Semuanya akan indah pada waktunya, maka bersabarlah....

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya Tulis Ilmiah ini penulis persembahkan dengan sepenuh hati kepada:

Ibu Tersayang Ma'nawaty

Yang selalu memberikan dukungan, motivasi, semangat, doa dan kasih sayang yang tiada henti untuk penulis dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini

Bapak Tersayang Solekan

Yang telah membesarkan penulis dengan cinta dan kasih sayangnya serta kesabaran, pengorbanan dan motivasi kepada penulis untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini

Kakakku Eka Oktaviana wati dan Adikku Trisna stya wati

Yang selalu memberi canda tawa, dukungan serta semangat untuk maju dan belajar untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini dengan baik.

Kalian adalah sumber kekuatan dan motivasi penulis yang selalu ada kapanpun dan tidak akan pernah ada habisnya

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr.Wb.

Alhamdulillahirabbi'alamin. Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena atas limpahan nikmat, rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah dengan judul “Perbedaan Profil Degradasi Perancah Koral Buatan Berbagai Konsentrasi Pada Medium Kultur Sel”.

Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan oleh karena bimbingan, arahan, doa, serta bantuan dari berbagai pihak yang terkait. Dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Allah SWT atas segala limpahan nikmat, anugerah, karunia serta kasih sayang-Nya yang sangat luas dan tak terbatas.
2. dr. H. Ardi Pramono, Sp. An., M. Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
3. drg. Hastoro Pintadi, Sp. Prost selaku Ketua Program Studi Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
4. drg. Erlina Sih Mahanani, M.Kes, selaku dosen pembimbing Karya Tulis Ilmiah yang sudah bersedia memberi waktu, pengetahuan, bantuan pemikiran, saran bimbingan dan dorongan yang sangat berguna bagi peneliti dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
5. drg. Dwi Suhartiningtyas selaku dosen penguji yang telah memberi banyak masukan serta pengarahan selama penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

6. Kedua orang tua tercinta yang selalu memberikan doa, nasehat serta semangat yang tiada henti-hentinya.
7. Adikku satu-satunya Trisna Styia Wati yang selalu memberi dukungan jarak jauh.
8. Om nasim, ulak laki, ulak bini, kakak ida, kakak herman, yasa, dayah, tata, nabil beserta seluruh keluarga besar penulis yang selalu memberikan semangat, motivasi, nasehat dan doa kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini
9. Adik Anis Setyawan yang menjadi teman seperjuangan kelompok degradasi yang selalu setia menjadi pendengar keluh kesah dan membantu selama pembuatan KTI ini.
10. Fannisa Afrilyana, Ayu Nur'Aini, Puspa Wardhani, Septi Quintari dan Puri Rahasdini yang telah menjadi teman seperjuangan dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini dan bekerja sama serta berbagi ilmu dengan penulis.
11. Karyawan perpustakaan FKIK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada.
12. Satpam FKIK UMY dan Pak Andi selaku staff Laboratorium Biokimia yang selalu membantu persiapan alat bahan penelitian.
13. Sahabat-sahabatku Maya Masita, Nindya Ratna Angganararas, Defitara Florentina, Annisaqiella Maharani, cahyaning Hanisa serta anak-anak “Kos Pinkan”, Dewi Puspitasari yang selalu memberi dukungan dan semangat.

14. Semua teman-teman seperjuangan KG 2011 yang sama-sama saling mendukung dan mendoakan hingga Karya Tulis Ilmiah ini selesai.
15. Semua pihak yang telah memberikan bantuan baik moral maupun material yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari sempurna, maka penulis mengharap kritik dan saran yang membangun dari pembaca guna kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini dikemudian hari. Semoga Karya Tulis Ilmiah ini bermanfaat bagi bidan Kedokteran Gigi dan bermanfaat bagi pembaca.

Yogyakarta, 2014

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|----------------------------------|------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | ii |
| PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN..... | iii |
| MOTTO..... | iv |
| HALAMAN PERSEMBAHAN..... | v |
| KATA PENGANTAR..... | vi |
| DAFTAR ISI..... | ix |
| DAFTAR TABEL..... | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xiii |
| INTISARI..... | xiv |
| ABSTRAK | xv |

BAB I PENDAHULUAN

| | |
|--------------------------------|---|
| A. Latar Belakang Masalah..... | 1 |
| B. Rumusan Masalah | 4 |
| C. Tujuan Penelitian..... | 5 |
| D. Manfaat Penelitian..... | 5 |
| E. Keaslian Penelitian | 6 |

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

| | |
|---|----|
| A. Telaah Pustaka | 8 |
| 1. <i>Bone Tissue Engineering</i> | 8 |
| 2. Perancah Buatan..... | 10 |
| 3. Degradasi Perancah..... | 13 |
| 4. Tulang | 15 |
| 5. Medium Kultur Sel..... | 19 |
| B. Landasan Teori | 20 |
| C. Kerangka Konsep | 22 |
| D. Hipotesis..... | 23 |

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

| | |
|--------------------------------------|----|
| A. Desain Penelitian..... | 24 |
| B. Subyek Penelitian | 24 |
| C. Tempat dan Waktu Penelitian | 24 |
| D. Variabel Penelitian..... | 24 |
| 1. Variabel Pengaruh..... | 24 |
| 2. Variabel Terpengaruh..... | 25 |
| 3. Variabel Terkendali..... | 25 |
| E. Definisi Operasional | 25 |
| F. Alat dan Bahan Penelitian..... | 25 |
| 1. Alat Penelitian..... | 25 |
| 2. Bahan Penelitian..... | 26 |
| G. Jalannya Penelitian..... | 26 |

| | |
|------------------------------------|----|
| H. Alur Penelitian..... | 28 |
| I. Analisis Data..... | 29 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | |
| A. Hasil Penelitian | 30 |
| B. Pembahasan..... | 35 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN | |
| Kesimpulan | 40 |
| Saran..... | 40 |
| DAFTAR PUSTAKA | 41 |
| LAMPIRAN | 45 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 1. Rerata \pm Standar Deviasi Profil Degradasi Perancah Korall Buatan | 30 |
| Tabel 2. Uji Normalitas Degradasi Perancah Korall Buatan..... | 32 |
| Tabel 3. Uji Homogenitas Data Degradasi Perancah Korall Buatan..... | 33 |
| Tabel 4. Hasil Analisis Data Profil Degradasi Perancah Korall Buatan | 33 |
| Tabel 5. Ringkasan Uji <i>Pos Hoc</i> Degradasi Perancah Hari Ke-1 Dengan Uji LSD | 34 |
| Tabel 6. Ringkasan Uji <i>Pos Hoc</i> Degradasi Perancah Hari Ke-6 Dengan Uji LSD | 35 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 1. Kerangka Konsep..... | 22 |
| Gambar 2. Alur Penelitian..... | 28 |
| Gambar 3. Grafik Rerata pH Larutan Medium Kultur Sel..... | 31 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| Lampiran 1. Etika Penelitian | |
| Lampiran 2. Surat Keterangan Bebas Laboratorium | |
| Lampiran 3. Rerata pH Degradasi Perancah Koral Buatan..... | 45 |
| Lampiran 4. Kenaikan pH Larutan Medium Kultur Sel Per Hari | 45 |
| Lampiran 5. Nilai Standar Deviasi Rerata pH Degradasi Perancah Koral Buatan..... | 46 |
| Lampiran 6. Hasil Output Uji SPSS Normalitas Profil Degradasi Perancah Koral Buatan..... | 47 |
| Lampiran 7. Hasil Output Uji SPSS Homogenitas Profil Degradasi Perancah Koral Buatan pada hari ke-1, 2, 3, 6, 7..... | 48 |
| Lampiran 8. Hasil Output Uji SPSS One Way Anova Profil Degradasi Perancah Koral Buatan | 48 |
| Lampiran 9. Hasil Output Uji SPSS LSD Profil Degradasi Perancah Koral Buatan Hari ke-1..... | 49 |
| Lampiran 10. Hasil Output Uji SPSS LSD Profil Degradasi Perancah Koral Buatan Hari ke-6 | 49 |
| Lampiran 11. Hasil Output Uji SPSS Kruskal Wallis Profil Degradasi Perancah Koral Buatan..... | 50 |
| Lampiran 12. Gambar Penelitian, Alat dan Bahan Penelitian..... | 51 |

INTISARI

Latar Belakang: Perancah harus memiliki sifat biologis salah satunya yaitu biodegradasi, kecepatan degradasi perancah harus tersetel dalam pola yang menyediakan dukungan yang cukup sampai jaringan bisa terbentuk sempurna, jika degradasi terlalu cepat maka jaringan sel tulang tidak bisa terbentuk sempurna. Koral merupakan bahan perancah yang masih dikembangkan sebagai bahan rekayasa jaringan.

Tujuan Penelitian : Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh Gelatin- CaCO_3 terhadap profil degradasi perancah koral buatan dengan konsentrasi gelatin dan CaCO_3 5 : 5 dan 4 : 6 pada medium kultur sel.

Metode Penelitian : Desain penelitian adalah eksperimental laboratorium in vitro. Subyek penelitian yaitu perancah Gelatin- CaCO_3 berbagai konsentrasi yaitu konsentrasi 5:5 dan 4:6. Subyek penelitian direndam dalam larutan medium kultur sel dan diinkubasi pada suhu 37°C , pH larutan perendam diukur setiap hari dengan menggunakan pH meter digital, pengukuran dilakukan setiap jam 15.00 WIB sampai larutan perendam kering.

Hasil : Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan SPSS.17. Data yang normal dianalisis dengan One Way Anova, dilanjutkan uji Post Hoc dengan LSD dan data yang tidak normal dianalisis dengan Kruskal Wallis. Hasil analisis menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada hari ke-1 $p=0,006$ ($p<0,05$), hari ke-5 $p=0,037$ ($p<0,05$) dan hari ke-6 $p=0,011$ ($p<0,05$).

Kesimpulan : Profil degradasi perancah koral buatan konsentrasi 5 : 5 berbeda dengan perancah koral buatan konsentrasi 4 : 6 pada medium kultur sel.

Kata kunci : Gelatin, CaCO_3 , Perancah, Degradasi, Rekayasa Jaringan

ABSTRAK

Background: Scaffold should have biological properties, one of which is biodegradation. The scaffold velocity should also be set in such a way that provides sufficient support for a perfect tissue remodeling. When degradation occurs too quickly, bone cells tissue may not form perfectly. Coral scaffold has been developed in tissue engineering.

Purpose of Study: The study is aimed to determine the effect of Gelatin-CaCO₃ on degradation profile of artificial coral scaffold with ratio of gelatin concentration to CaCO₃ of 5:5, and 4:6 respectively, on cell culture medium.

Methods: The research design comprised an in vitro experimental study. Subject of research was gelatin-CaCO₃ scaffold of different concentration, 5:5 dan 4:6 respectively. The subject was soaked in a cell culture medium solution and incubated at 37⁰C, pH of solution was measured daily using digital pH-meter, the measurement was conducted at 3PM until the solution became dry.

Results: SPSS.17 was used to analyze data of degradation profile of artificial coral scaffold on cell culture medium. Normal data were analyzed by One-Way ANOVA, followed by Post-Hoc test with Least Significant Difference (LSD) while data that were not assumed normal was tested by Kruskal Wallis. The results indicate that there was a significant difference on the first day, where $p=0.005$ ($p<0.05$), the fifth day $p=0.03$ ($p<0.05$) and the sixth day $p=0.011$ ($p<0.05$).

Conclusion: Artificial coral scaffold degradation profiles concentration of 5: 5 are differences with concentration 4: 6 in the cell-culture medium.

Keywords : Gelatin, CaCO₃, Scaffold, Degradation, Tissue Engineering

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kerusakan tulang alveolar akibat trauma, infeksi, kelainan kongenital, tumor ataupun yang disebabkan oleh penyakit lainnya, dapat menyebabkan jaringan tidak berfungsi secara normal. Kerusakan tulang alveolar yang parah diperlukan tindakan bedah untuk penanganannya. Metode konvensional untuk penanganan masalah diatas salah satunya adalah dengan rekonstruksi jaringan dan transplantasi organ namun metode ini masih memiliki beberapa kekurangan. Peralatan medis bedah rekonstruksi tidak mampu mengganti fungsi biologis tubuh secara utuh. Transplantasi organ memiliki keterbatasan pendeknya usia organ atau jaringan yang didonorkan serta menuntut pasien untuk mengkonsumsi obat immunosupresan untuk mencegah reaksi penolakan imun, sehingga dibutuhkan suatu perawatan baru yang dapat diterima secara klinis oleh pasien (Tabata, 2007).

Tissue engineering atau rekayasa jaringan merupakan teknik yang memiliki potensi untuk menciptakan jaringan yang kompleks dari jaringan yang sederhana. Rekayasa jaringan memerlukan tiga komponen dalam pembentukannya yaitu *scaffold* atau perancah, sel dan faktor pertumbuhan. Sel-sel akan berkembang biak, bermigrasi dan berdiferensiasi menjadi jaringan khusus dan dengan bantuan faktor pertumbuhan sel akan

menghasilkan komponen matriks ekstraseluler yang diperlukan untuk pembentukan jaringan (Sachlos dan Czernuszka, 2003). Perancah merupakan kerangka sementara untuk pertumbuhan jaringan serta sebagai tempat untuk sel menempel dan berkembang. Pemilihan perancah sangat penting untuk mengaktifkan sel-sel agar menghasilkan jaringan dan organ dengan bentuk dan ukuran yang diinginkan (O'Brien, 2011).

Perancah berperan penting dalam kesuksesan rekayasa jaringan, perancah harus memiliki sifat biologis seperti biokompatibel dan biodegradasi serta memiliki kekuatan dan porositas yang tinggi (Kitamura dkk., 2011). Biokompatibel artinya perancah mampu dimetabolisme tubuh dan akhirnya terdegradasi ketika sel-sel baru sudah mulai tumbuh, karena perancah yang tidak terurai dan tetap didalam jaringan dapat menimbulkan masalah seperti infeksi. Kecepatan degradasi perancah harus tersetel dalam pola yang menyediakan dukungan yang cukup sampai jaringan yang rusak terbentuk sempurna. Perancah mampu terdegradasi sedikit demi sedikit lalu melepaskan faktor pertumbuhan untuk sel berkembang biak dan saat jaringan sudah terbentuk sempurna perancah harus terdegradasi sepenuhnya (Gaikwad dkk., 2008).

Koral adalah bahan yang beberapa tahun ini dikembangkan sebagai perancah untuk rekayasa jaringan. Koral mengandung CaCO_3 atau kalsium karbonat yang merupakan bahan substitusi tulang yang bisa diolah menjadi bentuk dan ukuran yang diinginkan. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa koral memiliki sifat biokompatibilitas dan

osteoinduksi yang baik, bisa diabsorpsi serta dapat berfungsi sebagai sistem penghantar faktor pertumbuhan tulang (Hou dkk., 2006).

Koral sangat berpotensi sebagai perancah dalam rekayasa jaringan, tetapi koral merupakan ekosistem yang dilindungi karena berfungsi untuk menjaga keseimbangan habitat alam laut. Bertolak dari hal tersebut timbul pemikiran untuk membuat dan menggunakan perancah koral buatan berbahan dasar gelatin dan CaCO_3 yang memiliki sifat dan karakter mirip dengan koral laut.

Gelatin merupakan derivat dari kolagen yang merupakan unsur utama kulit, tulang dan jaringan penghubung. Perancah dengan bahan dasar gelatin mengalami degradasi cepat oleh enzim, sehingga perancah gelatin membutuhkan modifikasi dengan pencampuran bahan lain atau *crosslinking* untuk memperlambat kecepatan degradasi (Ratanavaraporn *et al.*, 2006). Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan pengujian terhadap beberapa perancah dengan konsentrasi gelatin- CaCO_3 berbeda-beda. Hasil penelitian tersebut mengarahkan pada dua konsentrasi gelatin- CaCO_3 5:5 dan 4:6 sebagai perancah yang sesuai untuk digunakan sebagai implan.

Hambatan utama dari pengembangan material perancah adalah menemukan perancah yang optimal dalam kontrol degradasi dengan waktu penyembuhan jaringan yang diinginkan (Tabata, 2007). Pengujian terhadap biomaterial perlu dilakukan agar sesuai untuk diaplikasikan sebagai bahan implan (Warastuti dan Suryani, 2013). Metode pengujian dapat menggunakan metode *in vitro* salah satunya

dilakukan dengan medium kultur sel. Medium kultur sel merupakan media yang diatur kondisinya untuk mempercepat pertumbuhan jaringan. Penelitian ini menggunakan medium kultur yang difungsikan sebagai lingkungan buatan kondusif untuk kelangsungan hidup dan atau proliferasi sel. Berdasarkan latar belakang diatas maka profil degradasi perancah koral buatan pada medium kultur sel perlu diteliti.

Islam telah mengajarkan untuk menggunakan semua yang ada di bumi ini dimanfaatkan sebagai penunjang kehidupan. Hal tersebut tersirat pada hadits berikut :

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أَصَابَ الدَّوَاءُ الدَّاءَ، بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: Dari Jabir bin ‘Abdullah radhiallahu ‘anhu, bahwa Rasulullah Shallallahu ‘alaihi wa sallam bersabda: “Setiap penyakit pasti memiliki obat. Bila sebuah obat sesuai dengan penyakitnya maka dia akan sembuh dengan seizin Allah Subhanahu wa Ta’ala.” (HR. Muslim)

Manusia dapat mencari kesembuhan dengan berbagai macam pengobatan tetapi sesungguhnya yang menghendaki kesembuhan kita adalah Allah SWT. Sesuai dengan firman Allah dalam QS. Al-Insaan Ayat 30 : ”Dan tiadalah kamu berkehendak kecuali yang dikehendaki Allah. Sesungguhnya Allah adalah Maha Mengetahui lagi Maha Bijakasana”

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut, apakah ada perbedaan profil

degradasi perancah koral buatan dengan konsentrasi gelatin dan CaCO_3 5 : 5 dan 4 : 6 pada medium kultur sel ?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Tujuan kegiatan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan profil degradasi perancah koral buatan pada medium kultur sel.

2. Tujuan khusus

mengetahui profil degradasi perancah koral buatan dengan konsentrasi gelatin dan CaCO_3 5 : 5 dan 4 : 6 pada medium kultur sel.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini bagi :

1. Penelitian besar, hasil penelitian ini akan memberikan gambaran profil degradasi perancah pada medium kultur sel sebelum dimuati dengan faktor pertumbuhan dan sel.
2. Peneliti, dapat menambah ilmu dan pengetahuan baru dari penelitiannya.
3. Tenaga medis, dengan maksud menambah pengetahuan tentang bahan yang ideal dalam rekayasa jaringan.
4. Masyarakat, sebagai bahan alternatif perawatan kerusakan jaringan.

E. Keaslian Penelitian

Penelitian tentang “Profil degradasi perancah buatan pada kultur sel” belum pernah dilakukan sebelumnya. Beberapa penelitian yang menyerupai penelitian ini adalah :

1. Penelitian (Warastuti dan Suryani, 2013) tentang Karakteristik Degradasi dari Biomaterial Poli (kaprolakton-kitosan-hidroksiapatit) Iradiasi Dalam Larutan *Simulated Body Fluid*. Penelitian ini menggunakan perancah yang terbuat dari bahan polikaprolakton (PCL), kitosan dan hidroksiapatit yang direndam dalam larutan *Simulated Body Fluid* (SBF). Penelitian ini menggunakan 3 komposit yaitu komposit I (propilakton 50%, kitosan 25%, hidroksiapatit 25%), komposit II (propilakton 45%, kitosan 35%, hidroksiapatit 20%) dan komposit III (propilakton 25%, kitosan 50%, hidroksiapatit 25%). Membran direndam dalam larutan SBF steril pada suhu 37°C selama 0 sampai 12 minggu kemudian persentase berat membran yang terdegradasi dianalisis berdasarkan lamanya waktu perendaman. Uji degradasi dalam larutan *simulated body fluid* (SBF) menunjukkan bahwa waktu perendaman optimal untuk mencapai berat membran terdegradasi maksimal dicapai selama 8 minggu. Membran komposit III menunjukkan hasil uji biodegradasi paling optimal karena memiliki kadar polikaprolakton paling kecil dan kitosan yang paling besar. Perbedaan dengan penelitian yang akan diteliti oleh peneliti adalah biomaterial perancah yang diteliti, penelitian tersebut menggunakan

Biomaterial Poli (kaprolakton-kitosan-hidroksiapatit) yang direndam dalam larutan *Simulated Body Fluid* sedangkan peneliti menggunakan perancah yang berbahan dasar CaCO_3 dan gelatin yang direndam dalam mediu kultur.

2. Penelitian (Tilley dkk., 2011) tentang *Tenocyte Proliferation on Collagen Scaffold Protect Against Degradation and Improves Scaffold Properties*. Penelitian ini membandingkan antara sifat perubahan perancah kolagen diinkubasi dalam media kultur dengan dan tanpa *tenocytes* manusia untuk menyelidiki hubungan antara degradasi dan proliferasi *tenocyte*. Perancah direndam dalam medium kultur selama 26 hari. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa degradasi perancah dalam medium kultur lebih cepat, sedangkan perancah yang diisi sel (FFT) degradasinya lebih lama sehingga menghasilkan perancah yang memiliki sifat lebih baik. Perbedaan dengan penelitian yang akan diteliti oleh peneliti adalah pada bahan dasar perancah dan peneliti tidak mengaplikasikan sel pada perancah. Persamaannya yaitu perancah direndam pada medium kultur selama 26.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Bone Tissue Engineering (BTE)

Cangkok tulang adalah prosedur pembedahan yaitu menggantikan tulang yang hilang dalam patah tulang yang kompleks. Cangkok tulang bisa menggunakan *autograft* (tulang diambil dari tubuh pasien sendiri, sering dari krista iliaka), *allograft* (tulang kadaver yang diperoleh dari bank tulang), *xenograft* (jaringan tulang yang diambil dari satu spesies dan ditanamkan ke dalam spesies yang berbeda) dan sintesis (biasanya terbuat dari hidroksiapatit atau lainnya yang terjadi secara alami dan zat biokompatibel) yang serupa dengan bahan yang terkandung di dalam tulang (Hung, 2012).

Bone Tissue Engineering (BTE) didasarkan pada pemahaman tentang struktur tulang, mekanik tulang dan pembentukan jaringan karena bertujuan untuk mendorong fungsional jaringan tulang baru (Amini dkk., 2012). *Tissue Engineering* atau rekayasa jaringan adalah multi disiplin yang mengacu kepada kedokteran klinis, ilmu material, genetika dan ilmu yang terkait pada ilmu kehidupan dan rekayasa (O'Brien, 2011). Rekayasa jaringan merupakan salah satu teknologi biomedis yang dikembangkan untuk membantu regenerasi jaringan tubuh untuk mengobati cacat ukuran besar yang tidak mungkin untuk

memperbaiki diri (Tabata, 2003). Tujuan rekayasa jaringan adalah untuk mengatasi keterbatasan pengobatan konvensional didasarkan pada transplantasi organ. Rekayasa jaringan memiliki potensi untuk menghasilkan sebuah suplai organ imunologis toleran buatan yang dapat tumbuh menyatu dengan pasien. Rekayasa jaringan merupakan solusi dari kerusakan organ atau jaringan tanpa perlu terapi tambahan, sehingga biaya pengobatan menjadi lebih efektif (Sachlos dan Czernuszka, 2003).

Tissue engineering membutuhkan tiga komponen dalam pembentukannya yaitu sel, *scaffold* atau perancah dan faktor pertumbuhan. Perancah pada rekayasa jaringan adalah perancah berpori tiga dimensi yang berfungsi untuk menyediakan lingkungan yang sesuai untuk regenerasi jaringan dan organ. Fungsi perancah adalah sebagai template untuk pembentukan jaringan dan biasanya ditambahkan sel punca dan faktor pertumbuhan (O'Brien, 2011). Sel-sel akan berkembang biak, bermigrasi dan berdiferensiasi menjadi jaringan khusus dan dengan bantuan sel pertumbuhan sel akan menghasilkan komponen matriks ekstraseluler yang diperlukan untuk pembentukan jaringan (Sachlos dan Czernuszka, 2003). Kombinasi perancah, sel dan faktor pertumbuhan sering disebut sebagai Triad Rekayasa Jaringan (O'Brien, 2011)

2. Perancah buatan

Scaffold atau perancah adalah kerangka sementara untuk pertumbuhan jaringan. Pemilihan perancah sangat penting untuk mengaktifkan sel-sel agar menghasilkan jaringan dan organ dengan bentuk dan ukuran yang diinginkan (O'Brien, 2011). Perancah merupakan komponen utama yang memberikan konteks arsitektur dimana ekstraselular matriks, sel-sel dan faktor pertumbuhan saling berinteraksi untuk membentuk jaringan (Gaikwad dkk., 2008).

Perancah yang ideal memiliki sifat yaitu; 1)arsitektur tiga dimensi yang memiliki bentuk dan kekuatan mekanik, 2)struktur berporus untuk menyediakan lingkungan pembedihan yang bagus untuk sel, 3)terbuat dari bahan yang biokompatibel sehingga bisa meminimalkan respon imun yang berlebihan, 4) laju degradasi terkontrol dalam pola yang menyediakan dukungan yang cukup sampai jaringan yang rusak terbentuk sempurna, 5) perancah dapat mendukung adhesi sel dan proliferasi, memfasilitasi sel-sel migrasi (Gaikwad dkk., 2008).

Desain perancah dibuat sedemikian rupa sehingga dapat mendukung pertumbuhan sel endotel dan perkembangan vaskularisasi fungsional yang efektif. Porositas pada perancah bertujuan untuk menentukan adhesi dan migrasi sel serta untuk mempermudah pembuluh darah dapat masuk ke area perancah dan merangsang diferensiasi osteoblas. Perancah akan menstimulasi osteoblas untuk

menghasilkan osteoid dan mendeposisi mineral dan osteoid untuk membentuk tulang baru (Chaeriyana dkk., 2013).

Perancah dibuat dari biomaterial seperti polimer alam, polimer sintetik dan keramik (O'Brien, 2011). Polimer alam yang digunakan sebagai bahan rekayasa jaringan yaitu fibrin, kolagen, gelatin, kitosan, alginat dan asam hyaluronic (Gaikwad dkk., 2008). Polimer alam secara biologis akan aktif dan menaikkan adhesi serta pertumbuhan sel dengan baik, selain itu polimer alam juga biodegradabel sehingga memungkinkan sel-sel untuk menghasilkan matriks ekstraseluler dan mengganti perancah yang terdegradasi (Hunt dan Grover, 2010).

a. Gelatin

Gelatin merupakan bahan hidrogel dari polimer alami yang diekstrak dari tulang dan kulit berbagai jenis binatang (Maddu dkk., 2006). Gelatin adalah polimer alam yang berasal dari kolagen dan umumnya digunakan dalam farmasi dan aplikasi medis karena memiliki kemampuan biodegradasi dan biokompabilitas pada keadaan fisiologis (Young dkk., 2005). Antigenitas dalam gelatin sangat rendah serta lebih praktis karena gelatin lebih murah daripada kolagen (Ratanavaraporn dkk., 2006). Gelatin mudah diaplikasikan kedalam bentuk matriks hidrogel yang diperoleh dengan pembekuan larutan gelatin lalu kemudian pembuangan air menggunakan proses liofilisasi (Leeuwenburgh dkk., 2010).

Hidrogel merupakan suatu material mirip gel namun terdapat perbedaan pada saat polimer tersebut terkena air, yaitu hidrogel akan mengalami pembesaran (*swelling*) ketika menyerap air sedangkan gel biasa akan larut begitu saja. Hidrogel mampu menyerap air 5-10 kali bobotnya atau mencapai lebih dari 20% dari total berat keringnya tanpa mengubah bentuk asli tiga dimensi hidrogel (Maddu dkk., 2006).

Polimer hidrogel adalah salah satu pilihan yang digunakan untuk membentuk perancah fungsional dalam perbaikan jaringan. Elastisitas intrinsik dan kemampuan retensi terhadap air yang terdapat pada hidrogel sintetik menyerupai matriks kolagen pada tulang. Kombinasi antara suatu material keras anorganik dan jaring-jaring hidrogel elastik memberikan sifat yang unik pada tulang, antara lain kekakuan yang rendah, kemampuan menahan faktor yang tinggi serta ketahanan terhadap tarikan dan tekanan (Chaeriyana dkk., 2013). Periode degradasi hidrogel tergantung pada kandungan air, semakin tinggi kandungan air dalam hidrogel maka semakin cepat terdegradasi (Tabata, 2003).

Ratanavaraporn dkk. (2006) mengemukakan bahwa perancah gelatin terdegradasi dengan cepat di enzim, sehingga perancah gelatin harus lebih dimodifikasi dengan pencampuran bahan lain atau meningkatkan *crosslinking* untuk memperlambat laju degradasi mereka.

b. Koral

Koral memiliki struktur yang menyerupai matriks atau tulang, setiap koral memiliki kadar kalsium karbonat (CaCO_3) dan kerangka struktural yang khas (Parizi dkk., 2013). Koral adalah bahan yang beberapa tahun ini dikembangkan sebagai perancah untuk rekayasa jaringan karena koral merupakan bahan substitusi tulang yang bisa diolah menjadi bentuk dan ukuran yang diinginkan. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa koral memiliki sifat biokompatibilitas dan osteoinduksi yang baik, bisa diabsorpsi serta dapat berfungsi sebagai sistem penghantar faktor pertumbuhan tulang (Hou dkk., 2006).

Struktur koral memungkinkan untuk menjadi osteoinduktif yang baik yang dapat diaplikasikan dengan stem sel (Tran dkk., 2010). Koral memiliki struktur berpori yang mendekati struktur tulang manusia. Diameter porinya adalah berkisar dari 150 sampai 500 μm , struktur ini memungkinkan koral untuk memfasilitasi pertumbuhan jaringan pembuluh darah dan tulang dari host (Omar dkk., 2011).

3. Degradasi perancah

Kecepatan degradasi perancah yang ideal yaitu sama dengan kecepatan pembentukan jaringan. Menurut Wu dan Ding (2004) degradasi perancah melewati tiga tahap. Tahap pertama dari degradasi meliputi dua sub tahap yaitu tahap I-1 dan tahap I-2. Tahap I-1

ditandai dengan penurunan dimensi dari porus perancah dan peningkatan sifat mekanik, sedangkan berat perancah tidak terjadi perubahan signifikan. Tahap I-2 semua variabel kecuali berat molekul tidak berubah secara signifikan. Tahap kedua digambarkan dengan penurunan *mechanical properties* secara signifikan dan meluasnya *area molecular weight distribution* (MWD), namun berat dan dimensi perancah konstan. Tahap ketiga mempunyai karakteristik yang jelas yaitu hilangnya berat molekul perancah, penurunan dimensional, perancah menjadi rapuh, kekuatan mekanik menjadi sangat kecil atau bahkan sulit untuk diukur, perubahan besar dalam morfologi pori dan pada akhirnya terjadi gangguan atau rusaknya perancah secara keseluruhan.

Wu dan Ding (2004) menemukan bahwa selama proses degradasi berat molekul perancah menurun pesat, degradasi hampir bersamaan di permukaan dan di bagian dalam perancah. Tingkat degradasi perancah berpori lebih lambat dibandingkan dengan blok polimer padat dengan formulasi yang sama, tetapi jika ketebalan atau diameter blok polimer padat dekat dengan ketebalan dinding perancah berpori, laju degradasi akan mirip dengan yang ada pada perancah berpori.

4. Tulang

Tulang sama seperti jaringan ikat lainnya, terdiri dari sel, serat dan substansi dasar. Komponen ekstrasel tulang mengapur menjadi substansi keras yang cocok untuk fungsi penyokong tubuh. Tulang merupakan penyokong tubuh dan tempat menempelnya otot dan tendo yang penting untuk daya gerak. Tulang menjalankan peran metabolik yang penting yaitu gudang kalsium yang dapat dipergunakan sesuai kebutuhan dalam pengaturan konsentrasi ion penting dalam darah dan cairan tubuh lain. Tulang mempunyai kombinasi sifat fisik yang kuat dan tahan kompresi, sedikit elastis, sekaligus merupakan materi yang relatif ringan (Fawcett, 2002).

a. Matriks tulang

Matriks tulang terdiri atas dua komponen utama, matriks organik 35% dan garam-garam anorganik 65% dari berat keringnya (Fawcett, 2002). Matriks anorganik terdiri atas kalsium dan fosfor yang berlimpah dan juga terdapat bikarbonat, sitrat, magnesium, kalium dan natrium. Kalium dan fosfor akan membentuk hidroksiapatit dengan komposisi $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Bahan organik dalam matriks tulang adalah kolagen I dan substansi dasar. Gabungan mineral dengan serat kolagen memberikan sifat keras dan ketahanan pada jaringan tulang (Junqueira, 2007).

b. Sel tulang

Pada tulang yang aktif tumbuh terdapat empat jenis sel yaitu *sel osteoprogenitor*, *osteoblas*, *osteosit* dan *osteoklas*. *Sel osteoprogenitor* merupakan sel yang belum berdiferensiasi, bisa berproliferasi dan memiliki kemampuan mitosis. Sel-sel ini biasanya ditemukan pada permukaan tulang di lapisan dalam periosteum, pada endosteum dan dalam saluran vaskular dari tulang. *Sel osteoprogenitor* selama pembentukan tulang mengalami pembelahan dan perubahan menjadi sel pembentuk tulang yaitu *osteoblas* (Johnson, 2011). Sel *osteoblas* adalah sel pembentuk tulang yang biasa ditemukan pada permukaan tulang (Fawcett, 2002). *Osteoblas* secara bertahap dikelilingi oleh produk sekresinya sendiri dan menjadi *osteosit* yang terselubung sendiri-sendiri dalam ruang yang disebut lakuna (Mescher, 2011).

Osteosit adalah sel tulang yang sebenarnya, sel ini membentuk komponen selular utama pada tulang dewasa. *Osteosit* seumur hidup tulang akan mengalami remodeling intern dan pembaruan yang mencakup menghilangkan matriks tulang pada banyak tempat, diikuti penggantian berupa deposisi tulang baru, dalam proses ini agen resorpsi tulang adalah *Osteoklas* (Fawcett, 2002). *Osteoklas* adalah sel besar berinti banyak yang berperan untuk resorpsi tulang dan pembentukan kembali jaringan tulang.

Osteoklas berasal dari sel-sel sistem fagosit mononuklear (Gartner dkk., 2012).

c. Remodeling tulang

Tulang adalah jaringan dinamis yang akan mengalami adaptasi terus-menerus selama hidup vertebrata untuk mencapai dan mempertahankan ukuran tulang, bentuk dan integritas struktural dan untuk mengatur homeostasis mineral. Pengembangan dan pemeliharaan sistem kerangka dilakukan dengan dua proses yaitu remodeling dan pemodelan. Pemodelan tulang bertanggung jawab untuk pertumbuhan dan adaptasi diinduksi secara mekanis dari tulang dan mensyaratkan bahwa proses pembentukan tulang dan penghapusan tulang. Remodeling tulang bertanggung jawab untuk penghapusan dan perbaikan tulang yang rusak untuk menjaga integritas dari kerangka dewasa dan homeostasis mineral (Raggatt dan Partridge, 2010).

Remodeling tulang sangat aktif pada anak-anak, mencapai 200 kali lebih cepat daripada orang dewasa (Junqueira, 2007). Proses remodeling tulang pada orang dewasa adalah suatu proses fisiologis dinamis yang berlangsung serentak di banyak lokasi pada kerangka. Tulang memiliki kapasitas yang baik untuk perbaikan dan regenerasi karena mengandung sel punca osteoprogenitor di seluruh endosteum dan periosteum serta memiliki suplai darah yang ekstensif (Mescher, 2011). Remodeling tulang terjadi selama

beberapa minggu dan dilakukan oleh kelompok *osteoklas* dan *osteoblas* sebagai pembentuk tulang yang diatur dalam struktur anatomi sementara yang dikenal sebagai "*Basic Multicellular Units*" (BMus) (Raggatt dan Partridge, 2010).

Fraktur tulang akan menyebabkan pembuluh darah rusak dan sel-sel tulang yang berdekatan dengan fraktur akan mati. Pembuluh darah yang rusak menimbulkan perdarahan setempat dan membentuk bekuan darah. Bekuan darah segera diangkut oleh makrofag dan matriks tulang yang berdekatan diresorpsi oleh *osteoklas*. Periosteum dan endosteum di sekitar daerah fraktur akan memberi respon berupa proliferasi dari sel-sel *osteoprogenitor* yang membentuk jaringan selular di sekeliling fraktur dan menyusup diantara ujung-ujung tulang yang patah. Tulang primer lalu dibentuk melalui osifikasi endokondral dan intra-membranosa. Perbaikan berlangsung sedemikian rupa sehingga terbentuk trabekula-trabekula yang tidak teratur ditulang primer, yang sementara menyatukan kedua ujung tulang yang patah dan membentuk kalus tulang yang keras (Mescher, 2011). Tulang primer secara berangsur akan diresorpsi dan diganti oleh tulang sekunder dan struktur asli tulang terbentuk kembali (Junqueira, 2007).

5. Medium kultur sel

Kultur sel adalah istilah umum yang digunakan untuk menghilangkan sel-sel, jaringan atau organ dari hewan atau tumbuhan dan kemudian menempatkan sel tersebut ke dalam lingkungan buatan kondusif untuk kelangsungan hidup dan proliferasi. Persyaratan lingkungan dasar bagi sel untuk tumbuh optimal adalah: suhu terkontrol, substrat untuk lampiran sel, media pertumbuhan yang tepat, inkubator yang mempertahankan pH yang benar dan osmolalitas. Langkah yang paling penting dan krusial dalam kultur sel adalah memilih medium pertumbuhan yang sesuai untuk budidaya in vitro. Medium kultur sel umumnya terdiri dari sebuah sumber yang tepat energi dan senyawa yang mengatur siklus sel. Sebuah medium kultur khas terdiri dari pelengkap asam amino, vitamin, garam-garam anorganik, glukosa, dan serum sebagai sumber faktor pertumbuhan, hormon, dan faktor tambahan lainnya. Fungsi media selain sebagai nutrisi juga membantu menjaga pH dan osmolalitas (Arora, 2013)

Medium kultur sel memiliki beberapa jenis yaitu media alam, media buatan, media kimiawi dan media *free protein*. Media alam hanya terdiri dari alami cairan biologis. Media alami sangat berguna dan nyaman untuk berbagai kultur sel hewan (Arora, 2013).

Media buatan atau sintetis dibuat dengan menambahkan nutrisi (organik dan anorganik), vitamin, garam, O₂ dan fase gas CO₂, protein serum, karbohidrat. Media buatan dikelompokkan menjadi empat

kategori yaitu : 1)Media mengandung serum yang menyediakan operator untuk menstabilkan agar nutrisi tidak larut air, hormon dan faktor pertumbuhan, inhibitor protease serta mengikat dan menetralkan gugus beracun, 2)Media *free serum*, media ini umumnya diformulasikan secara khusus untuk mendukung kultur dari tipe sel tunggal, 3)Media kimiawi yang mengandung bahan kontaminasi bebas ultra bahan anorganik dan organik dan juga mengandung aditif protein murni seperti faktor pertumbuhan, 4)Media *free protein* atau media yang tidak mengandung protein apapun dan hanya mengandung unsur non protein. Formulasi seperti MEM, RPMI-1640 adalah media *free protein* tetapi tambahan protein disediakan bila diperlukan (Arora, 2013).

B. Landasan Teori

Tissue engineering atau rekayasa jaringan merupakan salah satu inovasi untuk penanganan kerusakan jaringan tulang yang masih dikembangkan dibidang kedokteran gigi. Tulang memiliki kemampuan untuk regenerasi, tetapi pada kerusakan yang luas tulang memerlukan suplemen untuk dapat membentuk kembali jaringan tulang seperti semula, maka dibutuhkan teknik rekayasa jaringan.

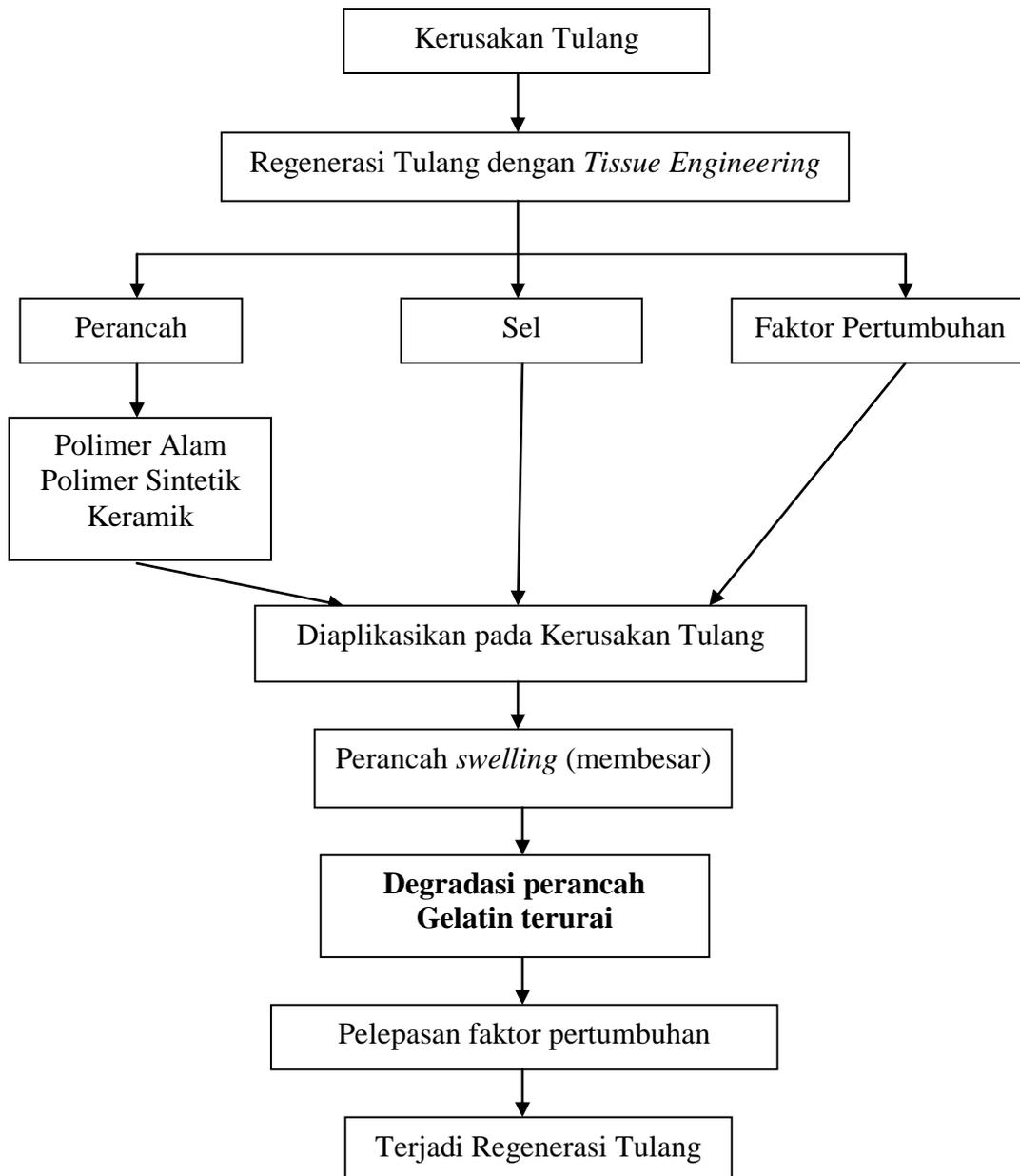
Rekayasa jaringan memerlukan tiga komponen dalam pembentukannya yaitu perancah, sel dan faktor pertumbuhan. Perancah merupakan kerangka sementara yang berfungsi sebagai tempat sel

berkembang, bermigrasi dan berdiferensiasi sehingga terbentuk jaringan yang diinginkan. Perancah harus bersifat biokompatibel, biodegradabel serta memiliki desain bangunan yang mendukung untuk sel tinggal dan berkembang. Biokompatibel artinya perancah dapat tinggal, menjalankan fungsinya dan diterima tanpa mengalami penolakan oleh imun tubuh. Biodegradabel artinya perancah harus bisa terdegradasi atau terurai secara alami di dalam tubuh. Perancah yang ideal terdegradasi sedikit demi sedikit lalu melepaskan faktor pertumbuhan yang digunakan sel untuk berkembang dan saat jaringan telah terbentuk sempurna, perancah sudah terdegradasi sepenuhnya di dalam tubuh.

Perancah koral buatan memiliki bahan dasar kalsium karbonat atau CaCO_3 dan gelatin. Kalsium karbonat merupakan bahan anorganik penyusun tulang, sehingga cocok digunakan sebagai perancah. Gelatin adalah turunan dari kolagen yang merupakan bagian penting dari tulang, kulit dan jaringan ikat. Gelatin akan cepat terdegradasi pada enzim sehingga perancah gelatin harus di *crosslinking* menjadi hidrogel untuk memperlambat degradasinya.

Pengembangan material cangkok tulang salah satunya yaitu dengan menemukan perancah yang optimal dalam membawa substansi yang dibutuhkan dalam durasi yang tepat untuk mendukung proses penyembuhan. Kecepatan degradasi perancah yang ideal yaitu sama dengan kecepatan pembentukan jaringan.

C. Kerangka konsep



Gambar 1. Kerangka Konsep

D. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, hipotesis dalam penelitian ini adalah terdapat perbedaan profil degradasi perancah koral buatan dengan konsentrasi gelatin dan CaCO_3 5 : 5 dan 4 : 6 pada medium kultur sel.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan *post test design*.

B. Subyek Penelitian

Bahan Uji : Perancah Koral buatan yang dikembangkan oleh tim peneliti Rekayasa Jaringan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

C. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia FKIK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Waktu penelitian : penelitian dilakukan pada tanggal 23 juni - 1 Juli 2014.

D. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel

a. Variabel pengaruh

Variabel pengaruh adalah konsentrasi perancah koral buatan

b. Variabel terpengaruh

Variabel terpengaruh adalah profil degradasi perancah koral buatan

c. Variabel terkendali

- 1) ukuran perancah
- 2) Bahan perendam
- 3) volume bahan perendam
- 4) waktu inkubasi
- 5) sterilisasi media, tindakan dan alat-alat yang digunakan dalam keadaan steril serta dikerjakan dengan cara yang aseptik termasuk operator.

E. Definisi Operasional

- a. Perancah koral buatan dalam penelitian ini adalah perancah yang berbentuk membran tipis dan dibuat dengan teknik hidrogel dengan bahan utama gelatin dan CaCO_3 .
- b. Media kultur adalah media tumbuh yang diatur kondisinya untuk mempercepat pertumbuhan kultur dan menyediakan nutrisi pada kultur.
- c. Profil degradasi adalah gambaran kecepatan gelatin pada perancah terurai sedikit demi sedikit sampai habis sepenuhnya yang diukur dengan menggunakan pH meter digital.

F. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat Penelitian
 - a. Iwaki 35mm/Tissue Culture Dish made in Japan
 - b. Mikro Pipet
 - c. Inkubator

- d. pH Meter Digital Mettler Toledo
 - e. Alat Tulis
2. Bahan Penelitian
- a. Perancah koral buatan dengan gelatin/CaCO₃ konsentrasi 5 : 5
 - b. Perancah koral buatan dengan gelatin/CaCO₃ konsentrasi 4 : 6
 - c. Perancah 10% gelatin
 - d. Media kultur (DMEM tanpa *phenol red*)

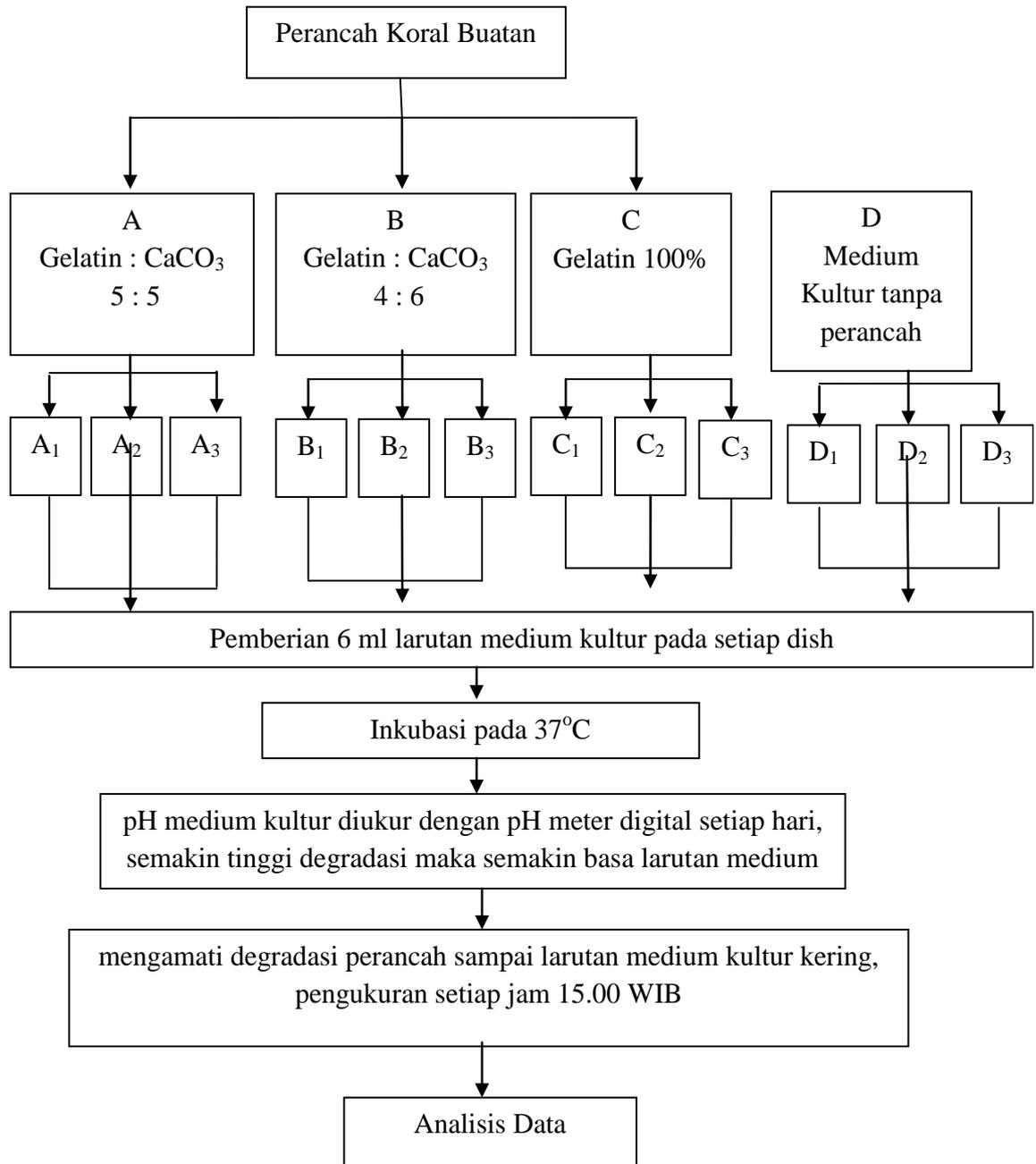
G. Jalannya Penelitian

1. Menyiapkan perancah koral buatan yang dibuat oleh Tim Rekayasa Jaringan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
2. Menyiapkan bahan perendam medium kultur yaitu DMEM tanpa phenol red.
3. Menyiapkan 12 dish sebagai tempat perancah.
4. Menandai setiap dish menjadi A₁ A₂ A₃, B₁ B₂ B₃, C₁ C₂ C₃ dan D₁ D₂ D₃.
5. Memasukkan perancah koral buatan dengan konsentrasi gelatin dan CaCO₃ 5 : 5 berdiameter 15,5 mm ke dalam dish A₁, A₂, A₃, kemudian mengambil 6 ml medium kultur dengan menggunakan mikro pipet dan dimasukkan pada masing-masing dish.
6. Memasukkan perancah koral buatan dengan konsentrasi gelatin dan CaCO₃ 4 : 6 berdiameter 15,5 mm ke dalam dish B₁, B₂, B₃, kemudian

mengambil 6 ml medium kultur dengan menggunakan mikro pipet dan dimasukkan pada masing-masing dish.

7. Memasukkan perancah 10% gelatin berdiameter 15,5 mm ke dalam dish C₁ C₂ C₃, kemudian mengambil 6 ml medium kultur dengan menggunakan mikro pipet dan dimasukkan pada masing-masing dish.
8. Memasukkan medium kultur DMEM tanpa phenol red kedalam dish D₁ D₂ D₃ sebanyak 6 ml dengan menggunakan mikro pipet.
9. Memasukkan semua dish ke dalam inkubator dengan suhu 37° C.
10. Mengukur pH medium kultur sel dengan menggunakan pH meter digital, degradasi ditandai dengan pH medium kultur sel yang semakin basa.
11. Pengukuran dilakukan sampai larutan medium kultur kering dan tidak bisa diukur lagi pH nya
12. Membuka penutup plastik elektroda pH meter digital kemudian dibilas dengan air dan dikeringkan dengan tisu. Menyalakan pH meter dengan menekan tombol ON/OFF kemudian memasukkan elektroda ke dalam larutan medium kultur sel, tunggu hingga angka berhenti lalu catat pH larutannya.
13. Pemakaian selanjutnya, dilakukan penetralan pH meter dengan air sebelum digunakan untuk mengukur pada larutan selanjutnya.
14. Pengukuran pH dilakukan setiap hari pada jam 15.00 WIB.

H. Alur Penelitian



Gambar 2. Alur penelitian

I. Analisis Data

Data dari hasil penelitian ini dianalisis dan dibahas dengan ANOVA satu jalur dilanjutkan uji *post hoc Least Significant Difference* (LSD) untuk data yang normal dan uji *Kruskal Wallis* pada data yang tidak normal.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Data yang diperoleh dalam penelitian ini berupa data kuantitatif berskala rasio. Hasil rerata dan simpangan baku pengukuran pH larutan medium kultur sel pada perancah koral buatan berbagai konsentrasi tercantum dalam Tabel 1.

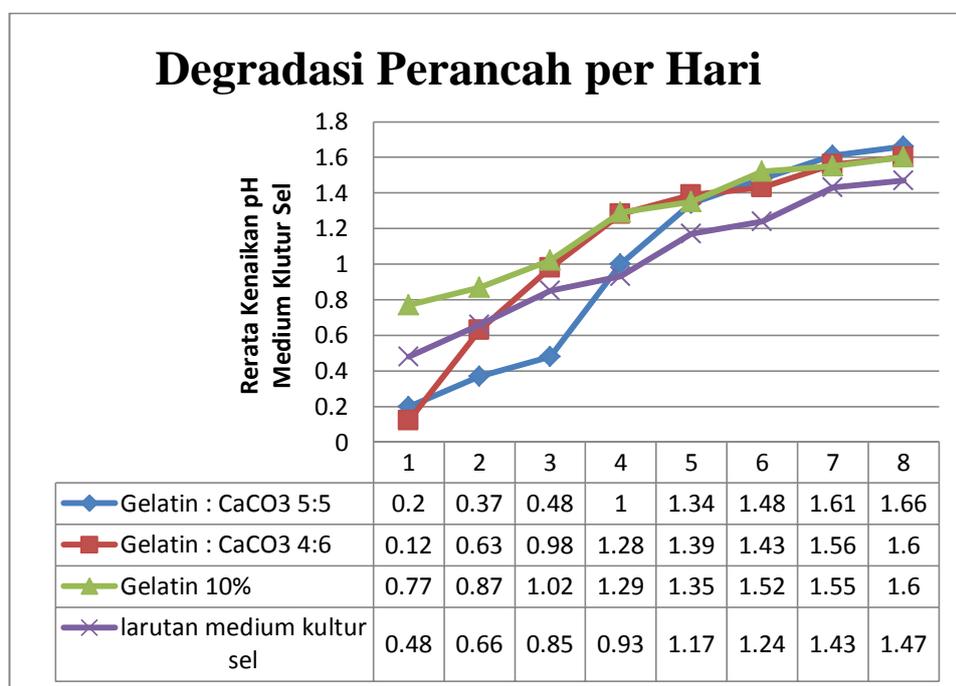
Tabel 1. Rerata \pm Standar Deviasi pH larutan medium kultur sel

| Spesimen | pH larutan medium kultur sel | | | | | | | |
|-----------------------------|------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Gel : CaCO ₃ 5:5 | 0,2 \pm | 0,37 \pm | 0,48 \pm | 1 \pm | 1,34 \pm | 1,48 \pm | 1,61 \pm | 1,66 \pm |
| | 0,08 | 0,17 | 0,65 | 0,22 | 0,02 | 0,03 | 0,03 | 0,04 |
| gel : CaCO ₃ 4:6 | 0,12 \pm | 0,63 \pm | 0,98 \pm | 1,28 \pm | 1,39 \pm | 1,43 \pm | 1,56 \pm | 1,6 \pm |
| | 0,07 | 0,39 | 0,04 | 0,03 | 0,02 | 0,07 | 0,09 | 0,14 |
| Gel 10% | 0,77 \pm | 0,87 \pm | 1,02 \pm | 1,29 \pm | 1,35 \pm | 1,52 \pm | 1,55 \pm | 1,6 \pm |
| | 0,13 | 0,54 | 0,61 | 0,22 | 0,05 | 0,04 | 0,02 | 0,01 |
| lar medium kultur | 0,48 \pm | 0,66 \pm | 0,85 \pm | 0,93 \pm | 1,17 \pm | 1,24 \pm | 1,43 \pm | 1,47 \pm |
| | 0,29 | 0,41 | 0,55 | 0,46 | 0,12 | 0,14 | 0,04 | 0,01 |

Data pada Tabel 1 menunjukkan nilai rerata profil degradasi membran gelatin pada 4 kelompok tersebut berbeda-beda. Hasil tersebut menunjukkan bahwa adanya kenaikan nilai degradasi dari hari ke-1 hingga hari ke-8. Hal ini menunjukkan bahwa degradabilitas terjadi seiring bertambahnya waktu.

Pada percobaan hari ke-1, 2 dan 3 rata-rata pH tertinggi terdapat pada kelompok gelatin 10% sedangkan rata-rata pH terendah terdapat pada konsentrasi 5 : 5. Percobaan hari ke-4 rata-rata pH tertinggi terdapat pada kelompok gelatin 10% sedangkan rata-rata pH terendah terdapat

pada kelompok larutan medium kultur sel. Percobaan hari ke-5 rata-rata pH tertinggi terdapat pada konsentrasi 4 : 6 sedangkan rata-rata pH terendah terdapat pada kelompok larutan medium kultur sel. Pada percobaan hari ke-6 rata-rata pH tertinggi terdapat pada kelompok gelatin 10% sedangkan rata-rata pH terendah terdapat pada kelompok larutan medium kultur sel. Percobaan hari ke-7 rata-rata pH tertinggi terdapat pada konsentrasi 5 : 5 sedangkan rata-rata pH terendah terdapat pada kelompok larutan medium kultur sel. Pada percobaan hari ke-8 rata-rata pH tertinggi terdapat pada konsentrasi 5 : 5 sedangkan rata-rata pH terendah terdapat pada kelompok larutan medium kultur sel.



Gambar 3. Grafik Rerata pH Lautan Medium Kultur Sel

Untuk menelaah lebih jauh fenomena yang ditemukan maka dilakukan uji statistik dengan menggunakan program *SPSS Statistics 17.0*. Penelitian ini menggunakan uji statistik One Way Anova. Uji normalitas

dan uji homogenitas dilakukan terlebih dahulu untuk mengetahui normal atau tidaknya data hasil pengukuran degradasi perancah koral buatan. Uji normalitas digunakan untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak secara analitik. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 12 sampel, sehingga uji normalitas dilihat dengan cara membaca angka pada tabel *Shapiro-Wilk*. Data hasil uji normalitas tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2. Uji Normalitas pH larutan medium kultur sel

| Spesimen | Shapiro Wilk (sig.) pH larutan medium kultur sel | | | | | | | |
|------------------------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | hari 1 | hari 2 | hari 3 | hari 4 | hari 5 | hari 6 | hari 7 | hari 8 |
| Gel: CaCO ₃ 5 : 5 | .726 | .900 | .059 | .044 | 1.000 | .637 | .363 | .253 |
| Gel: CaCO ₃ 4 : 6 | .391 | .591 | .726 | 1.000 | .000 | .424 | .206 | 1.000 |
| Gelatin 10% | .503 | .105 | .125 | .354 | .407 | .843 | .637 | 1.000 |
| lar. Medium kultur sel | .399 | .851 | .526 | .400 | .576 | .878 | .537 | .000 |

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa terdapat distribusi data yang tidak normal yaitu pada kelompok 5:5 pada hari ke-4 dengan nilai sig. 0,044 ($p < 0,05$), 4:6 pada hari ke-5 dengan nilai sig 0,000 ($p < 0,05$) dan pada kelompok larutan medium kultur pada hari ke-8 dengan nilai sig. 0,000 ($p < 0,05$) sehingga ketiga data tersebut dianggap tidak normal, ketiga data tersebut sudah dilakukan transformasi data dan tetap tidak normal sehingga ketiga data tersebut tidak bisa dianalisa dengan menggunakan *One Way Anova* tetapi dengan turunannya yaitu *Kruskal Wallis* sedangkan data yang normal dianalisis dengan menggunakan *one way anova*.

Data yang normal, sebelum dilakukan uji *One Way Anova* harus dilakukan uji homogenitas yaitu dengan *levene's test*, hasil pengujian homogenitas tersaji dalam Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Homogenitas Data Profil Degradasi Perancah Koral Buatan

| Hari | Sig. (p) |
|------|----------|
| 1 | 0,056* |
| 2 | 0,265* |
| 3 | 0,053* |
| 6 | 0,189* |
| 7 | 0,019 |

(*) terdapat perbedaan yang bermakna $p > 0,05$

Pada uji homogenitas didapatkan nilai $p > 0,05$ pada hari 1,2,3, 6, dan nilai $p < 0,05$ pada satu kelompok yaitu pada kelompok hari ke-7 dengan nilai $p = 0,019$. Data tersebut menunjukkan bahwa data hari ke-7 tidak bisa dilakukan uji *One Way Anova*, sehingga hari ke-7 harus dianalisis dengan uji *Kruskal Wallis*. Maka didapatkan hasil seperti pada tabel berikut

Tabel 4. Hasil Analisis Data Profil Degradasi Perancah Koral Buatan

| Hari | Sig | keterangan |
|------|---------|------------------|
| 1 | 0,006* | signifikan |
| 2 | 0,540* | tidak signifikan |
| 3 | 0,598* | tidak signifikan |
| 4 | 0,209** | tidak signifikan |
| 5 | 0,037** | signifikan |
| 6 | 0,011* | signifikan |
| 7 | 0,06** | tidak signifikan |
| 8 | 0,128** | tidak signifikan |

*Uji one way anova, **Uji kruskal wallis

Hasil analisis statistik Tabel 4 tidak terdapat perbedaan bermakna ($p > 0,05$) pada kelompok hari ke-2,3,4,7 dan 8. Hasil analisis statistik menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) pada kelompok degradasi perancah hari ke-1 dengan nilai $p = 0,006$, hari ke-5 dengan nilai $p = 0,037$ dan pada hari ke-6 dengan nilai $p = 0,011$. Berdasarkan statistik Tabel 4 diketahui terdapat perbedaan signifikan pada hari ke-1,5 dan 6, oleh karena itu langkah selanjutnya dilakukan analisis *Post Hoc* untuk melihat perbedaan rerata antara kelompok perlakuan, tetapi karena data hari ke-5 diuji dengan uji *Kruskal wallis* maka data hari ke-5 tidak bisa dilakukan analisis *Post Hoc*. Analisis *Post Hoc* yang digunakan adalah *Least Significant Difference (LSD)*. Uji LSD dilakukan untuk melihat perbedaan rerata antar kelompok perlakuan pada hari ke-1 dan 6.

Tabel 5. Ringkasan Uji *Pos Hoc* Degradasi Perancah Hari Ke-1 Dengan Uji LSD

| Komposisi | 5 : 5 | 4 : 6 | Gelatin 10% | Medium kultur sel |
|-------------------|-------|-------|-------------|-------------------|
| 5 : 5 | | ,577 | ,003* | ,082 |
| 4 : 6 | | | ,002* | ,033* |
| Gelatin 10% | | | | ,066 |
| Medium kultur sel | | | | |

(*) terdapat perbedaan bermakna, signifikansi $p < 0,05$

Pada kelompok degradasi perancah hari ke-1, terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok membran komposisi 5 : 5 dan gelatin 10%, 4 : 6 dan gelatin 10%, 4 : 6 dan medium kultur sel.

Tabel 6. Ringkasan Uji *Pos Hoc* Degradasi Perancah Hari Ke-6 Dengan Uji LSD

| Komposisi | 5 : 5 | 4 : 6 | Gelatin 10% | Medium kultur sel |
|-------------------|-------|-------|-------------|-------------------|
| 5 : 5 | | ,406 | ,620 | ,006* |
| 4 : 6 | | | ,202 | ,020* |
| Gelatin 10% | | | | ,003* |
| Medium kultur sel | | | | |

Pada kelompok degradasi perancah hari ke-6, terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok membran komposisi 5:5 dan medium kultur sel, 4:6 dan larutan medium kultur sel, Gelatin 10% dan medium kultur sel.

B. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan profil degradasi perancah koral buatan berbagai konsentrasi yang direndam dalam larutan medium kultur sel. Data hasil penelitian menunjukkan terjadinya kenaikan nilai degradasi dari hari ke-1 sampai hari ke-8 sehingga menggambarkan bahwa degradabilitas terjadi seiring dengan bertambahnya waktu.

Membran gelatin hidrogel akan mengembang atau *swelling* dalam medium cair, menunjukkan bahwa polimer yang terkandung mampu mengabsorpsi medium tanpa larut di dalamnya (Dlukha, 2014). Polimer gelatin hidrogel akan mengembang dan sedikit demi sedikit mulai

terdegradasi ketika terjadi hidrasi yang tinggi (*highly swollen*) karena kekuatan antar rantai molekul tidak dapat menahan kekuatan dari luar (Gemeinhart dan Guo, 2008). Degradasi gelatin dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu dan durasi inkubasi, tingkat keasaman, pelarut dan ikatan silang (*crosslinking*). Faktor-faktor tersebut akan berpengaruh terhadap kestabilan perancah sehingga proses degradasi akan terus terjadi dan meningkat hingga perancah habis (Haugh dkk., 2011). Pada penelitian ini faktor-faktor tersebut telah dikendalikan ke dalam variabel terkendali sehingga hanya perbedaan konsentrasi gelatin-CaCO₃ yang berpengaruh terhadap profil degradasi membran gelatin.

Berdasarkan analisis statistik *One Way Anova* dan uji *Kruskal Wallis* pada hari ke- 2, 3, 4, 7, 8 tidak terdapat perbedaan bermakna pada profil degradasi perancah gelatin : CaCO₃ masing-masing kelompok. Perbedaan bermakna profil degradasi perancah gelatin : CaCO₃ terdapat pada hari ke-1, 5 dan 6. Pada hari ke-1 terdapat perbedaan yang bermakna terlihat pada hasil uji LSD pada Tabel 5. Pada Tabel 1 terlihat rerata pH tertinggi pada hari ke-1 yaitu pada kelompok gelatin 10%. Sifat hidrofilik yang dimiliki perancah gelatin 10% mampu mengikat air lebih banyak daripada perancah gelatin : CaCO₃. Pada penelitian Tronci (2010) menunjukkan bahwa perancah gelatin yang di *crosslinked* dapat membesar selama 3 hari sebelum terdegradasi, sedangkan perancah gelatin murni terdegradasi sempurna setelah ± 16 jam perendaman. Hari ke-6 terdapat perbedaan bermakna terlihat dari hasil uji LSD pada Tabel 6. Pada Tabel 1

terlihat rerata kenaikan pH tertinggi pada hari ke-6 yaitu pada kelompok gelatin 10%.

Medium kultur sel adalah media buatan kondusif yang berbentuk cairan atau gel yang dirancang untuk mendukung pertumbuhan sel, agar sel tersebut dapat hidup dan berproliferasi. Medium kultur sel DMEM mengandung konsentrasi asam amino 2 kali lipat dan vitamin 4 kali lipat lebih banyak dari MEM, karena itu DMEM menjadi medium yang biasa dipakai untuk kultur sel (Freshney, 2005). Medium ini biasanya mengandung garam-garam anorganik (kalsium klorida, ferri nitrat, kalium klorida, Magnesium Sulfat, Natrium Bikarbonat, Natrium Klorida dan Natrium Phosphat), D'Glukosa, Phenol red, asam amino (L-Arginin Hidroklor, LCystein.2HCl, L-Glutamin, Glycine, L-Histidin.HCl.H₂O, L-Isoleusin, L-leucine, L-Lysine Hidroksiklorida, L-Methionin, L-Phenilalanin, L-Serin, L-Treonin, LTriptofan, L-Tyrosin.2Na.2H₂O dan L-Valine), Vitamin (D-Kalsium Pantothenate, Koline klorida, asam folat, L-Inositol, Niacinamide, Pyridoxin HCl, Riboflavin dan Thiamine Hidroklorin) (Mather dan Roberts 1998).

Penelitian ini menggunakan larutan medium kultur sel DMEM tanpa *phenol red*, karena *phenol red* akan mengubah warna larutan apabila terjadi kenaikan atau penurunan pH. Perubahan warna karena *phenol red* ini dikhawatirkan akan menghasilkan data yang kurang akurat, karena perubahan warna akan membuat terganggunya penetrasi sinyal cahaya pada dish, sehingga sulit dibedakan perubahan pH larutan medium

kultur sel dikarenakan faktor lingkungan penelitian atau karena efek degradasi perancah (Young, 2005). Media untuk perkembangan sel mengandung nutrisi yang tinggi sehingga sangat rentan oleh kontaminasi. Cara terbaik untuk mencegah kontaminasi adalah dengan teknik aseptis, karena itu peralatan, operator, area kerja dan bahan-bahan harus steril (Sitorus dkk., 2011).

Nilai pH gelatin atau derajat keasaman gelatin merupakan salah satu parameter penting dalam standar mutu gelatin, sehingga pengukuran nilai pH larutan gelatin penting dilakukan karena pH larutan gelatin mempengaruhi sifat-sifat yang lainnya seperti viskositas dan kekuatan gel, serta akan berpengaruh juga pada aplikasi gelatin dalam produk. Gelatin dengan pH netral akan bersifat stabil dan penggunaannya akan menjadi lebih luas (Astawan, 2002). Pengukuran pH dilakukan untuk menentukan kondisi dan besaran gelatin yang terdegradasi, semakin pH naik atau basa maka besaran degradasi semakin tinggi. Gelatin merupakan rantai polipeptida yang terdiri atas berbagai macam asam amino yang mempunyai sifat *zwitter ion* atau dipolar karena dalam struktur kimianya mempunyai gugus fungsi negatif (COO⁻) dan gugus fungsi positif (NH₃⁺). Asam amino juga bersifat amfoter, yaitu dapat bersifat asam, netral atau basa sesuai dengan kondisi lingkungannya (Winarno, 2002).

pH larutan medium kultur sel, membran gelatin pada penelitian ini memiliki nilai paling tinggi (basa) karena pengaruh dari pH larutan medium kultur sel yang semakin basa saat diinkubasi diikuti dengan

degradation rate gelatin yang tinggi sehingga akan menaikkan pH medium kultur sel. Degradasi perancah gelatin : CaCO_3 menyebabkan pemutusan rantai molekul perancah sehingga menyebabkan gelatin terdegradasi dan bagian ion kalsium CaCO_3 terdegradasi, sehingga membuat garam anorganik pada larutan medium kultur semakin meningkat dan menghasilkan suasana basa. Pemutusan rantai molekul perancah saat degradasi menyebabkan ukuran porus pada perancah melebar sehingga memungkinkan menjadi tempat sel menempel dan berproliferasi. Pembesaran perancah yang direndam dalam larutan medium kultur sel tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan perancah yang direndam dalam air (Tronci, 2010).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa Profil degradasi perancah koral buatan konsentrasi 5 : 5 berbeda dengan perancah koral buatan konsentrasi 4 : 6 pada medium kultur sel.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh konsentrasi Gelatin- CaCO_3 , adapun saran yang dapat diberikan yaitu :

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan yang sama tetapi menggunakan aplikasi sel.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang degradasi perancah koral buatan dengan konsentrasi gelatin lebih banyak dari pada konsentrasi CaCO_3 .
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan yang sama tetapi perancah dimasukkan ke dalam inkubator dengan pengatur kadar CO_2 .

DAFTAR PUSTAKA

- Amini, A. R., Laurencin, C. T., & Nukavarapu, S. P. (2012). Bone tissue engineering: recent advances and challenges. *Crit Rev Biomed Eng*, 363-408.
- Arora, M. (2013). Cell Culture Media : A Review. *Labome*, 1-25.
- Astawan, M., Hariyadi, P., dan Mulyani, A. 2002. *Analisis Sifat Reologi Gelatin dari Kulit Ikan Cucut*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.
- Chaeriyana, R., Ridho, F., & Bandriananto, D. A. (2013). Peningkatan Jumlah Pembuluh Darah akibat Aplikasi Graft Hidrogel-CHA pada soket pasca Pencabutan Gigi. *BIMKGI*, 1, 14-18.
- Dlukha, R. N. (2014). Formulasi Membran Hidrogel Berpori Berbasis Kombinasi HPMC (Hydroxy Propyl Methyl Cellulose) dan Gelatin. 1-10.
- Fawcett, D. W. (2002). *Buku Ajar Histologi* (12 ed.). EGC.
- Freshney, Ian. 2005. *Culture of Animal Cells: A Manual of Basics Technique*, fifth edition. New York: John Willey & Sons Inc.
- Gaikwad, V. V., Patil, A. B., & Gaikwad, M. V. (2008). Scaffold for Drug Delivery in Tissue Engineering. *International Journal of Pharmaceutical Science and Nanotechnology*, 1, 113-122.
- Gartner, L. P., Hiatt, J. L., & Strum, L. M. (2012). *Biologi Sel dan Histologi*. Tangerang: Binarupa Aksara.
- Guo, C., & Gemeinhart, R. A. (2008). Understanding the adsorption mechanism of chitosan onto poly(lactide-co-glycolide) particles. *Eur J Pharm Biopharm*, 597-604.
- Haugh, M.G., Murphy, C.M., McKiernan, R.C., Altenbuchner, C., Brien, F.J.O., 2011, crosslinking and mechanical properties significantly influence cell attachment, proliferation and migration within collagen glycosaminoglycan scaffolds, *Original Article Tissue Engineering*, Mary Ann Liebert Inc., Dublin, 1-3
- Hou, R., Chen, F., Yang, Y., Cheng, X., Gao, Z., Yang, H. O., et al. (2006). Comparative study between coral-mesenchymal stem cells-rhBMP-2 composite and auto-bone-graft in rabbit critical-sized cranial defect model. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 85-93.

- Hung, N. N. (2012). Basic Knowledge of Bone Grafting. *Intechopen*, 11-38.
- Hunt, N. C., & Grover, L. M. (2010). Cell Encapsulating Using Biopolymer Gels for Regenerative Medicine. *Biotechnol Lett*, 32, 733-742.
- Johnson, Kurt E. *Histologi & Biologi Sel*. Translated by Fajar Arifin Gunawijaya. Tangerang: Binarupa Aksara, 2011.
- Junqueira, L. c., & Carneiro, J. (2007). *Histologi Dasar: Teks dan Atlas* (10 ed.). Jakarta: EGC.
- Kitamura, C., Nishihara, T., Terashita, M., Tabata, Y., Jimi, E., Washio, A., et al. (2011). Regeneration Approaches for Dental Pulp and Periapical Tissues with Growth Factor, Biomaterials, and Laser Irradiation. *Polymers*, 3, 1776-1793.
- Leeuwenburgh, S. C., Jo, J., Wang, H., Yamamoto, M., Jansen, J. A., & Tabata, Y. (2010). Mineralization, Biodegradation and Drug Release behavior of Gelatin/Apatite Composite Microspheres for Bone Regeneration. *Biomacromolecules*, 2653-2659.
- Maddu, A., Modjahidin, K., Sardy, S., & Zain, H. (2006). Pengaruh Kelembaban Terhadap Sifat Optik Film Gelatin. *Makara Sains*, 10, 30-34.
- Mather JP, Roberts PE. 1998. *Introduction to Cell and Tissue Culture*. New York: Plenum Press.
- Mescher, A. L. (2011). *Histologi Dasar JUNQUEIRA Teks dan Atlas*. Jakarta: EGC.
- O'Brien, F. (2011). Biomaterials & Scaffold for Tissue Engineering. *materials Today*, 3, 88-95.
- Omar, N. S., Kannan, T. P., Ismail, A. R., Hamid, S. S., & Samsudin, A. R. (2011). In vitro Cytotoxic Evaluation of Processed Natural Coral on Human Lung Fibroblasts. *Journal of US-China Medical Science*, 8, 205-2010.
- Parizi, A. M., Oryan, A., Sarvestani, Z. S., & Sadegh, A. B. (2013). Effectiveness of Synthetic Hydroxyapatite Versus Parsian Gulf Coral in an Animal Model of Long Bone Defect Reconstruction. *J Orthopaed Traumatol*, 259-268.
- Raggatt, L. J., & Partridge, N. C. (2010). Cellular and Molecular Mechanisms of Bone Remodeling. *The Journal of Biological Chemistry*, 1-17.

- Ratanavaraporn, J., Damrongsakkul, S., Sanchavanakit, N., Banaprasert, T., & Kanokpanont, S. (2006). Comparison of Gelatin and Collagen Scaffold for Fibroblast Cell Culture. *Journal of Metals, Materials and Minerals*, 16, 31-36.
- Sachlos, E., & Czernuszka, J. T. (2003). Making Tissue Engineering Scaffold Work. Review: The Application of Solid Freeform fabrication Technology to The Production of Tissue Engineering Scaffolds. *Journal Musculoskeletal Research*, 5, 29-40.
- Sitorus, E. N, E. D. Hastuti. Dan N. Setiari. 2011. Induksi Kalus Binahong (Basella rubra L.) Secara In Vitro pada Media Murashige & Skoog dengan Konsentrasi Sukrosa Yang Berbeda. *Bioma*, 13(1): 1-7
- Tabata, Y. (2003). Tissue Regeneration Based on Drug Delivery Technology. *Topics in Tissue Engineering*, 1-32.
- Tabata, Y. (2007). Current status of regenerative medical therapy based on drug delivery technology, *Repro. Biomed.*, 70-80.
- Tran, C. T., Gargiulo, C., Thao, H. D., Tuan, H. M., Filgueira, L., & Strong, D. M. (2010). Culture and Differentiation of Osteoblast on Coral Scaffold from Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells . *Cell Tissue Bank*, 247-261.
- Tronci, G. (2010). synthesis, characterization, and biological evaluation of gelatin based scaffold. *German Research Foundation* .
- Warastuti, Y., & Suryani, N. (2013). Karakteristik Degradasi dari Biomaterial Poli(kaprolakton-kitosan-hidroksiapatit) Iradiasi Dalam Larutan Simulated Body Fluid. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dn Radiasi*, 11-22.
- Winarno F G. 2002. *Kimia Pangan Dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Wu, L., & Ding, J. (2004). In Vitro Degradation of Three-Dimensional Porous Poly (D,L-lactide-co-glycolide) Scaffold for Tissue Engineering. *Biomaterials*, 25, 5821-5830.
- Young, S., Wong, M., Tabata, Y., & Mikos, A. G. (2005). Gelatin as A Delivery Vehicle For The Contolled Release Bioactive Molecul. *Journal of Controlled Release*, 109(1-3), 256-274.

LAMPIRAN

LAMPIRAN 3. Rerata pH Degradasi Perancah Korala Buatan

| KOMPOSISI | SAMPSEL | RERATA pH | | | | | | | | TOTAL |
|-------------------|---------|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|
| | | HARI 1 | HARI 2 | HARI 3 | HARI 4 | HARI 5 | HARI 6 | HARI 7 | HARI 8 | |
| 5 : 5 | A1 | 7,53 | 7,61 | 8,63 | 8,65 | 8,76 | 8,91 | 9,02 | 9,08 | 68,19 |
| | A2 | 7,59 | 7,76 | 7,48 | 8,28 | 8,74 | 8,89 | 8,98 | 9,02 | 66,74 |
| | A3 | 7,69 | 7,94 | 7,52 | 8,27 | 8,72 | 8,85 | 9,03 | 9,09 | 67,11 |
| 4 : 6 | B1 | 7,58 | 7,93 | 8,34 | 8,65 | 8,78 | 8,75 | 8,85 | 8,86 | 67,74 |
| | B2 | 7,55 | 7,69 | 8,42 | 8,71 | 8,81 | 8,85 | 9,02 | 9,14 | 68,19 |
| | B3 | 7,44 | 8,46 | 8,39 | 8,68 | 8,78 | 8,88 | 9,00 | 9,00 | 68,63 |
| Gelatin 10% | C1 | 8,21 | 7,64 | 7,71 | 8,85 | 8,77 | 8,92 | 8,97 | 9,01 | 68,08 |
| | C2 | 8,28 | 8,55 | 8,73 | 8,44 | 8,79 | 8,95 | 8,94 | 9,00 | 69,68 |
| | C3 | 8,02 | 8,61 | 8,81 | 8,77 | 8,70 | 8,88 | 8,95 | 8,99 | 69,73 |
| Medium Kultur Sel | D1 | 7,98 | 8,10 | 8,41 | 8,49 | 8,60 | 8,65 | 8,84 | 8,87 | 67,94 |
| | D2 | 8,10 | 8,45 | 8,71 | 8,68 | 8,67 | 8,77 | 8,86 | 8,88 | 69,12 |
| | D3 | 7,55 | 7,64 | 7,64 | 7,81 | 8,44 | 8,50 | 8,79 | 8,87 | 65,24 |

LAMPIRAN 4. Kenaikan pH Larutan Medium Kultur Sel Per Hari

| SAMPSEL | HARI 1 | HARI 2 | HARI 3 | HARI 4 | HARI 5 | HARI 6 | HARI 7 | HARI 8 |
|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| A1 | 0.13 | 0.21 | 1.23 | 1.25 | 1.36 | 1.51 | 1.62 | 1.68 |
| A2 | 0.19 | 0.36 | 0.08 | 0.88 | 1.34 | 1.49 | 1.58 | 1.62 |
| A3 | 0.29 | 0.54 | 0.12 | 0.87 | 1.32 | 1.45 | 1.63 | 1.69 |
| | | | | | | | | |
| B1 | 0.18 | 0.53 | 0.94 | 1.25 | 1.38 | 1.35 | 1.45 | 1.46 |
| B2 | 0.15 | 0.29 | 1.02 | 1.31 | 1.41 | 1.45 | 1.62 | 1.74 |
| B3 | 0.04 | 1.06 | 0.99 | 1.28 | 1.38 | 1.48 | 1.6 | 1.6 |
| | | | | | | | | |
| C1 | 0.81 | 0.24 | 0.31 | 1.45 | 1.37 | 1.52 | 1.57 | 1.61 |
| C2 | 0.88 | 1.15 | 1.33 | 1.04 | 1.39 | 1.55 | 1.54 | 1.6 |
| C3 | 0.62 | 1.21 | 1.41 | 1.37 | 1.3 | 1.48 | 1.55 | 1.59 |
| | | | | | | | | |
| D1 | 0.58 | 0.7 | 1.01 | 1.09 | 1.2 | 1.25 | 1.44 | 1.47 |
| D2 | 0.7 | 1.05 | 1.31 | 1.28 | 1.27 | 1.37 | 1.46 | 1.48 |
| D3 | 0.15 | 0.24 | 0.24 | 0.41 | 1.04 | 1.1 | 1.39 | 1.47 |

LAMPIRAN 5. Nilai Standar Deviasi Rerata pH Degradasi Perancah Korall

Buatan

| SAMPEL | hari 1 | hari 2 | hari 3 | hari 4 | hari 5 | hari 6 | hari 7 | hari 8 |
|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| A1 | 0,13 | 0,21 | 1,23 | 1,25 | 1,36 | 1,51 | 1,62 | 1,68 |
| A2 | 0,19 | 0,36 | 0,08 | 0,88 | 1,34 | 1,49 | 1,58 | 1,62 |
| A3 | 0,29 | 0,54 | 0,12 | 0,87 | 1,32 | 1,45 | 1,63 | 1,69 |
| std | 0,08 | 0,17 | 0,65 | 0,22 | 0,02 | 0,03 | 0,03 | 0,04 |
| mean | 0,20 | 0,37 | 0,48 | 1 | 1,34 | 1,48 | 1,61 | 1,66 |
| | | | | | | | | |
| B1 | 0,18 | 0,53 | 0,94 | 1,25 | 1,38 | 1,35 | 1,45 | 1,46 |
| B2 | 0,15 | 0,29 | 1,02 | 1,31 | 1,41 | 1,45 | 1,62 | 1,74 |
| B3 | 0,04 | 1,06 | 0,99 | 1,28 | 1,38 | 1,48 | 1,6 | 1,6 |
| std | 0,07 | 0,39 | 0,04 | 0,03 | 0,02 | 0,07 | 0,09 | 0,14 |
| mean | 0,12 | 0,63 | 0,98 | 1,28 | 1,39 | 1,43 | 1,56 | 1,60 |
| | | | | | | | | |
| C1 | 0,81 | 0,24 | 0,31 | 1,45 | 1,37 | 1,52 | 1,57 | 1,61 |
| C2 | 0,88 | 1,15 | 1,33 | 1,04 | 1,39 | 1,55 | 1,54 | 1,6 |
| C3 | 0,62 | 1,21 | 1,41 | 1,37 | 1,3 | 1,48 | 1,55 | 1,59 |
| std | 0,13 | 0,54 | 0,61 | 0,22 | 0,05 | 0,04 | 0,02 | 0,01 |
| mean | 0,77 | 0,87 | 1,02 | 1,29 | 1,35 | 1,52 | 1,55 | 1,60 |
| | | | | | | | | |
| D1 | 0,58 | 0,7 | 1,01 | 1,09 | 1,2 | 1,25 | 1,44 | 1,47 |
| D2 | 0,7 | 1,05 | 1,31 | 1,28 | 1,27 | 1,37 | 1,46 | 1,48 |
| D3 | 0,15 | 0,24 | 0,24 | 0,41 | 1,04 | 1,1 | 1,39 | 1,47 |
| std | 0,29 | 0,41 | 0,55 | 0,46 | 0,12 | 0,14 | 0,04 | 0,01 |
| mean | 0,48 | 0,66 | 0,85 | 0,93 | 1,17 | 1,24 | 1,43 | 1,47 |

LAMPIRAN 6. Hasil Output Uji SPSS Normalitas Profil Degradasi Perancah
Koral Buatan

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-------------------------|---|---------------------------------|----|------|--------------|----|-------|
| Perlakuan | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Profil Degradasi Hari 1 | A | .232 | 3 | . | .980 | 3 | .726 |
| | B | .308 | 3 | . | .902 | 3 | .391 |
| | C | .284 | 3 | . | .934 | 3 | .503 |
| | D | .306 | 3 | . | .904 | 3 | .399 |
| Profil Degradasi Hari 2 | A | .191 | 3 | . | .997 | 3 | .900 |
| | B | .264 | 3 | . | .955 | 3 | .591 |
| | C | .366 | 3 | . | .796 | 3 | .105 |
| | D | .203 | 3 | . | .994 | 3 | .851 |
| Profil Degradasi Hari 3 | A | .374 | 3 | . | .776 | 3 | .059 |
| | B | .232 | 3 | . | .980 | 3 | .726 |
| | C | .362 | 3 | . | .804 | 3 | .125 |
| | D | .278 | 3 | . | .940 | 3 | .526 |
| Profil Degradasi Hari 4 | A | .377 | 3 | . | .770 | 3 | .044 |
| | B | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| | C | .316 | 3 | . | .890 | 3 | .354 |
| | D | .306 | 3 | . | .904 | 3 | .400 |
| Profil Degradasi Hari 5 | A | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| | B | .385 | 3 | . | .750 | 3 | .000 |
| | C | .304 | 3 | . | .907 | 3 | .407 |
| | D | .267 | 3 | . | .951 | 3 | .576 |
| Profil Degradasi Hari 6 | A | .253 | 3 | . | .964 | 3 | .637 |
| | B | .301 | 3 | . | .912 | 3 | .424 |
| | C | .204 | 3 | . | .993 | 3 | .843 |
| | D | .196 | 3 | . | .996 | 3 | .878 |
| Profil Degradasi Hari 7 | A | .314 | 3 | . | .893 | 3 | .363 |
| | B | .346 | 3 | . | .837 | 3 | .206 |
| | C | .253 | 3 | . | .964 | 3 | .637 |
| | D | .276 | 3 | . | .942 | 3 | .537 |
| Profil Degradasi Hari 8 | A | .337 | 3 | . | .855 | 3 | .253 |
| | B | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| | C | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| | D | .385 | 3 | . | .750 | 3 | .000 |

a. Lilliefors Significance Correction

LAMPIRAN 7. Hasil Output Uji SPSS Homogenitas Profil Degradasi Perancah

Koral Buatan pada hari ke-1, 2, 3, 6, 7

Test of Homogeneity of Variances

| | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|-------------------------|------------------|-----|-----|------|
| Profil Degradasi Hari 1 | 3.881 | 3 | 8 | .056 |
| Profil Degradasi Hari 2 | 1.595 | 3 | 8 | .265 |
| Profil Degradasi Hari 3 | 3.979 | 3 | 8 | .053 |
| Profil Degradasi Hari 6 | 2.028 | 3 | 8 | .189 |
| Profil Degradasi Hari 7 | 5.983 | 3 | 8 | .019 |

LAMPIRAN 8. Hasil Output Uji SPSS One Way Anova Profil Degradasi

Perancah Koral Buatan

ANOVA

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------------------------|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Profil Degradasi Hari 1 | Between Groups | .773 | 3 | .258 | 9.070 | .006 |
| | Within Groups | .227 | 8 | .028 | | |
| | Total | 1.001 | 11 | | | |
| Profil Degradasi Hari 2 | Between Groups | .374 | 3 | .125 | .776 | .540 |
| | Within Groups | 1.286 | 8 | .161 | | |
| | Total | 1.660 | 11 | | | |
| Profil Degradasi Hari 3 | Between Groups | .551 | 3 | .184 | .663 | .598 |
| | Within Groups | 2.217 | 8 | .277 | | |
| | Total | 2.768 | 11 | | | |
| Profil Degradasi Hari 6 | Between Groups | .137 | 3 | .046 | 7.292 | .011 |
| | Within Groups | .050 | 8 | .006 | | |
| | Total | .187 | 11 | | | |

LAMPIRAN 9. Hasil Output Uji SPSS LSD Profil Degradasi Perancah Korall

Buatan Hari ke-1

Multiple Comparisons

Profil Degradasi Hari 1
LSD

| (I) Perlakuan | (J) Perlakuan | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|-------------------|-------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 5:5 | 4:6 | .08000 | .13766 | .577 | -.2374 | .3974 |
| | gelatin 10% | -.56667* | .13766 | .003 | -.8841 | -.2492 |
| | medium kultur sel | -.27333 | .13766 | .082 | -.5908 | .0441 |
| 4:6 | 5:5 | -.08000 | .13766 | .577 | -.3974 | .2374 |
| | gelatin 10% | -.64667* | .13766 | .002 | -.9641 | -.3292 |
| | medium kultur sel | -.35333* | .13766 | .033 | -.6708 | -.0359 |
| gelatin 10% | 5:5 | .56667* | .13766 | .003 | .2492 | .8841 |
| | 4:6 | .64667* | .13766 | .002 | .3292 | .9641 |
| | medium kultur sel | .29333 | .13766 | .066 | -.0241 | .6108 |
| medium kultur sel | 5:5 | .27333 | .13766 | .082 | -.0441 | .5908 |
| | 4:6 | .35333* | .13766 | .033 | .0359 | .6708 |
| | gelatin 10% | -.29333 | .13766 | .066 | -.6108 | .0241 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

LAMPIRAN 10. Hasil Output Uji SPSS LSD Profil Degradasi Perancah Korall

Buatan Hari ke-6

Multiple Comparisons

Profil Degradasi Hari 6
LSD

| (I) Perlakuan | (J) Perlakuan | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|-------------------|-------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 5:5 | 4:6 | .05667 | .06468 | .406 | -.0925 | .2058 |
| | gelatin 10% | -.03333 | .06468 | .620 | -.1825 | .1158 |
| | medium kultur sel | .24333* | .06468 | .006 | .0942 | .3925 |
| 4:6 | 5:5 | -.05667 | .06468 | .406 | -.2058 | .0925 |
| | gelatin 10% | -.09000 | .06468 | .202 | -.2391 | .0591 |
| | medium kultur sel | .18667* | .06468 | .020 | .0375 | .3358 |
| gelatin 10% | 5:5 | .03333 | .06468 | .620 | -.1158 | .1825 |
| | 4:6 | .09000 | .06468 | .202 | -.0591 | .2391 |
| | medium kultur sel | .27667* | .06468 | .003 | .1275 | .4258 |
| medium kultur sel | 5:5 | -.24333* | .06468 | .006 | -.3925 | -.0942 |
| | 4:6 | -.18667* | .06468 | .020 | -.3358 | -.0375 |
| | gelatin 10% | -.27667* | .06468 | .003 | -.4258 | -.1275 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

LAMPIRAN 11. Hasil Output Uji SPSS Kruskal Wallis Profil Degradasi Perancah Korala Buatan

Ranks

| | Perlakuan | N | Mean Rank |
|-------------------------|-------------------|----|-----------|
| Profil Degradasi Hari 4 | 5:5 | 3 | 3.83 |
| | 4:6 | 3 | 8.33 |
| | gelatin 10% | 3 | 9.00 |
| | medium kultur sel | 3 | 4.83 |
| | Total | 12 | |
| Profil Degradasi Hari 5 | 5:5 | 3 | 6.00 |
| | 4:6 | 3 | 10.33 |
| | gelatin 10% | 3 | 7.67 |
| | medium kultur sel | 3 | 2.00 |
| | Total | 12 | |
| Profil Degradasi Hari 7 | 5:5 | 3 | 10.17 |
| | 4:6 | 3 | 7.50 |
| | gelatin 10% | 3 | 6.00 |
| | medium kultur sel | 3 | 2.33 |
| | Total | 12 | |
| Profil Degradasi Hari 8 | 5:5 | 3 | 10.00 |
| | 4:6 | 3 | 6.50 |
| | gelatin 10% | 3 | 6.50 |
| | medium kultur sel | 3 | 3.00 |
| | Total | 12 | |

Test Statistics^{a,b}

| | Profil Degradasi Hari 4 | Profil Degradasi Hari 5 | Profil Degradasi Hari 7 | Profil Degradasi Hari 8 |
|-------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Chi-Square | 4.532 | 8.465 | 7.423 | 5.694 |
| df | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Asymp. Sig. | .209 | .037 | .060 | .128 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

LAMPIRAN 12. Gambar Penelitian



Gambar 1. pH meter digital



Gambar 2. Alat dan bahan penelitian



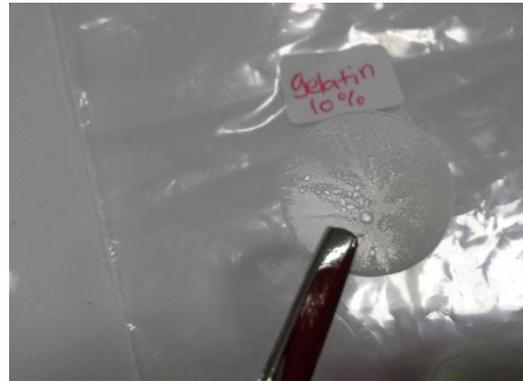
Gambar 3. Inkubator



Gambar 4. Perancah konsentrasi 5 : 5



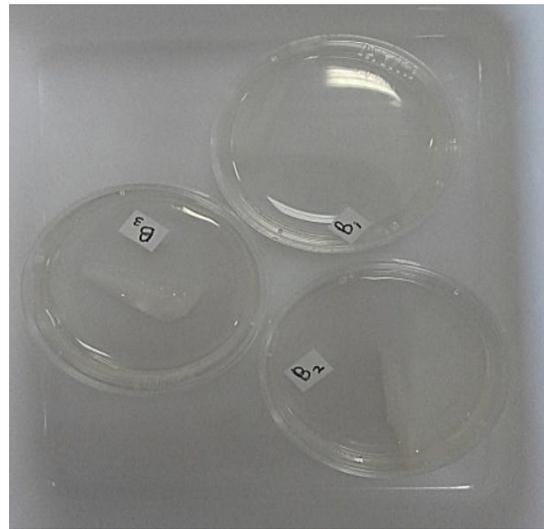
Gambar 5. Perancah Konsentrasi 4:6



Gambar 6. Perancah Gelatin 10%



Gambar 7. Rak kelompok penelitian



Gambar 8. Penelitian hari ke-1



Gambar 9. Penelitian hari ke-3



Gambar 10. Penelitian hari ke-8