

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

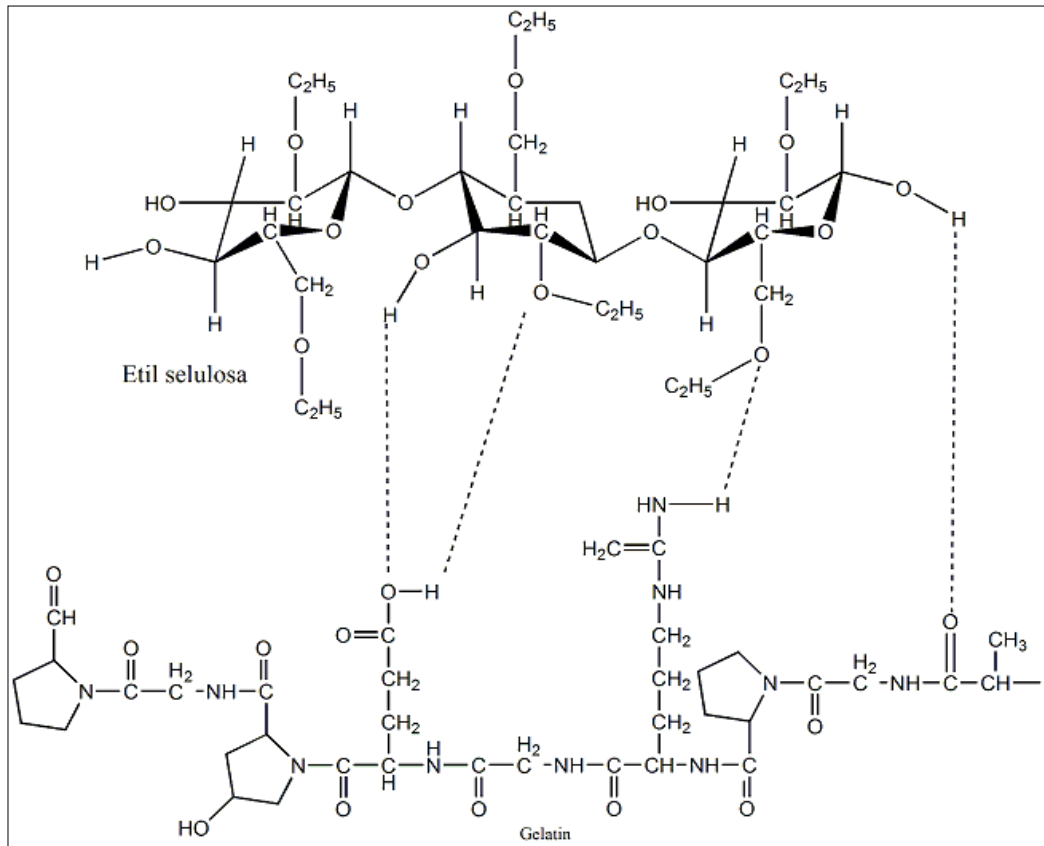
A. Formulasi Membran Hidrogel

Membran hidrogel berpori berbasis polimer etil selulosa dan gelatin dengan metode pembuatan *ice particle leaching* diformulasi dengan perbandingan 3 formula yaitu 1:1 ; 1:1,5 dan 1:2. Formula tersebut didapatkan dari hasil *trial and error* yang dilakukan sebelumnya. Formula dengan perbandingan 3:1 ketika sudah dikeringkan menghasilkan membran hidrogel yang mudah patah atau rapuh dikarenakan masih terdapat etil selulosa yang tidak berikatan silang dengan gelatin. Perbandingan 1:3 menghasilkan membran hidrogel yang keras dikarenakan sifat gelatin yang dipengaruhi oleh berat molekul dan panjang ikatan rantai asam aminonya. Semakin panjang ikatan rantai asam amino maka berat molekul gelatin semakin besar sehingga ikatan yang terbentuk semakin padat dan kuat (Junianto, 2006). Etil selulosa dan gelatin digunakan sebagai basis yang dapat membentuk membran hidrogel dengan ikatan silang atau *crosslink*, sedangkan pori dibentuk dengan metode *ice particle leaching*. Polimer semi sintetik yang digunakan yakni etil selulosa dilarutkan dengan pelarut etanol 96%, hal yang sama dilakukan pada gelatin dengan penambahan pelarut aquadest. Etil selulosa adalah polimer derivat selulosa, struktur kimia mengandung unsur karbon (C), oksigen (O) dan hidrogen (H) dengan rumus empirik $(C_6H_{10}O_5)_n$ (Rowe *et al*, 2009). Pemilihan etil selulosa berdasarkan sifat serat selulosa yang memiliki fleksibilitas dan elastisitas yang baik

(Murtaza, 2012). Gelatin digunakan sebagai polimer karena secara luas memiliki sifat biokompatibel yang baik (Young *et al*, 2005). Gelatin juga mampu menyerap air 5-10 kali bobotnya (Maddu *et al*, 2006). Pencampuran kedua basis untuk membentuk membran hidrogel dibantu dengan penambahan gliserin untuk meningkatkan elastisitas (Rowe *et al*, 2009). Gliserin juga berfungsi menjaga kelembaban membran hidrogel agar tidak terlalu keras dan tidak mudah rapuh. Penambahan metil dan propil paraben digunakan sebagai antimikrobia. Campuran hidrogel ditambahkan butiran es sebagai agen pembentuk pori melalui dua tahap yaitu setengah campuran hidrogel dituang dalam *petri dish* kemudian ditambahkan butiran es pada permukaannya dan ditambahkan sisa campuran hidrogel serta butiran es. Hidrogel disimpan selama 24 jam dalam lemari pendingin dengan tujuan mempercepat pembekuan. Komponen air yang membeku dilelehkan pada suhu ruang selama kurang lebih 6 hari.

Muyonga *et al* (2004), mengatakan bahwa terjadi *crosslink* atau ikatan silang dengan rantai atau polimer lain dalam hal ini adalah gelatin dengan kadar asam amino tinggi sehingga akan memiliki kekuatan gel lebih besar. Gugus fungsi primer pada gelatin yang diduga menjadi target *crosslink* adalah gugus amina (-NH₂), amida (-CONH) dan karboksilat (-COOH) pada gelatin yaitu pada gugus yang memiliki muatan positif (H) dalam strukturnya (Syed, 2011). Gelatin yang dicampurkan dengan air akan membentuk ikatan hidrogen. Ikatan ini terbentuk antara gugus amina (-NH₂) dan amida (-CONH) pada gelatin yaitu pada gugus yang memiliki

muatan positif (H) dalam strukturnya. Atom H pada molekul H₂O memiliki muatan parsial positif, dan atom O memiliki muatan parsial negatif. Hal ini dikarenakan ikatan H₂O pada air bukan ikatan kovalen sempurna. Adanya penambahan suhu, mengakibatkan semakin reaktifnya atom O. Terbentuknya ikatan hidrogen akan memungkinkan gelatin untuk membentuk ikatan dengan gelatin maupun polimer lainnya dalam hal ini akan berikatan dengan gugus etoksi (-OC₂H₅) pada etil selulosa melalui proses *crosslink* sehingga akan terbentuk suatu membran hidrogel. Ikatan hidrogen merupakan mekanisme ikatan yang terbentuk secara molekuler. Ikatan hidrogen menunjukkan bahwa ikatan silang yang terjadi merupakan ikatan antara atom hidrogen dengan satu atom elektronegatif dan tertarik ke arah atom elektronegatif lainnya. Mekanisme ikatan secara molekuler yang dimungkinkan terjadi pada penelitian ini adalah terbentuknya ikatan hidrogen yang ditunjukkan dengan garis putus-putus pada Gambar 6.



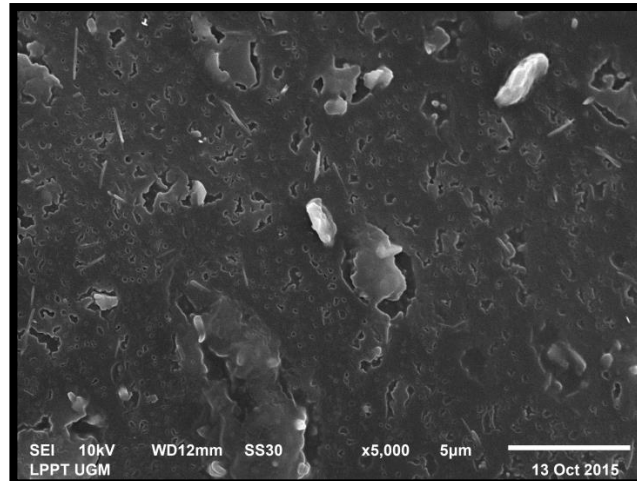
Gambar 1. Ilustrasi *Crosslink* Polimer Etil Selulosa dan Gelatin

Menurut Wahyuni (2001), penambahan gliserin pada formulasi digunakan sebagai *plasticizer* yang berfungsi untuk meningkatkan fleksibilitas membran dan mengurangi kerapuhan membran jika disimpan pada suhu rendah. *Plasticizer* meningkatkan fleksibilitas dikarenakan polimer mempunyai ikatan yang berbentuk 3 dimensi pada rantai-rantainya sehingga *plasticizer* akan masuk ke tengah-tengah rantai yang menyebabkan ikatan melemah karena jarak antar polimer lebih luas. Kondisi lingkungan seperti kelembaban udara dan tingginya kadar air pada formulasi membran hidrogel dapat memicu terjadinya kontaminasi mikroba dan jamur, sehingga perlu dilakukan pencegahan dengan penambahan bahan pengawet

kombinasi metil paraben dan propil paraben. Pemilihan kombinasi metil paraben dan propil paraben sebagai pengawet karena merupakan pengawet berspektrum luas, kuat dan berefek sinergis (Rowe, 2009). Metil paraben digunakan sebagai antibakteri, propil paraben sebagai antifungi. Penambahan bahan pengawet ini bukan merupakan material atau polimer yang memiliki karakteristik untuk membentuk *scaffold*. Komposisinya yang sangat sedikit juga tidak berpengaruh secara signifikan terhadap ikatan silang yang terjadi antara etil selulosa dan gelatin (Dhirisma, 2014). Antimikroba ini menimbulkan efek yang tampak secara visual pada membran hidrogel yakni warna membran yang dihasilkan menjadi tidak bening menyerupai gel atau plastik (Dhirisma, 2014).

Gilson *et al* (2006), menyatakan bahwa pada metode *ice particle leaching* struktur pori yaitu ukuran pori dan morfologi pori dapat dikontrol dengan mudah. Setelah membran hidrogel dibekukan, dilakukan pelelehan membran hidrogel pada suhu ruang sehingga terbentuk pori pada membran hidrogel. Pori terbentuk karena butiran es meninggalkan ruang berdasarkan dari bahan yang terdapat pada membran. Hal yang mempengaruhi terbentuknya pori dalam proses *ice particle leaching* adalah pengadukan, volume polimer dan pelarut yang digunakan. Perbedaan perbandingan komposisi polimer dan volume pelarut berhubungan dengan banyaknya ruang kosong yang terbentuk setelah proses pengadukan dan pelelehan butiran, hal ini dikarenakan saat polimer dilarutkan dalam pelarut maka polimer akan mengembang sedangkan volume pelarut tidak ikut

mengembang (Dhirisma, 2014). Pori yang terbentuk pada hidrogel dengan metode *ice particle leaching* dapat dilihat pada Gambar 7 bahwa butiran es akan meninggalkan ruang berdasarkan dari bahan yang terdapat pada membran.



Gambar 2. Pori pada *Ice Particle Leaching*

Dalam penelitian ini terdapat tiga formula yang berbeda komposisinya. Pemilihan komposisi formula didasarkan pada sifat yang dimiliki oleh masing-masing polimer sehingga diharapkan mampu menghasilkan karakteristik fisik dan mekanik dari membran. Variasi formula membran hidrogel didesain dengan komposisi persentase jumlah gelatin yang lebih banyak dibandingkan dengan etil selulosa untuk menghasilkan membran hidrogel yang biokompatibel dan biodegradabel, hal ini karena gelatin merupakan *gelling agent* dan mudah membentuk ikatan silang dengan polimer lain (Maddu *et al*, 2006).

B. Karakteristik Fisik Membran Hidrogel

a. Identifikasi Organoleptik

Membran hidrogel berpori yang terbentuk dari kombinasi polimer etil selulosa dan gelatin menggunakan metode *ice particle leaching* diformulasi menjadi 3 formula. Identifikasi organoleptik membran hidrogel dilakukan dengan membandingkan ketiga formula selama waktu penelitian. Pengujian secara organoleptik pada saat *trial* menghasilkan membran hidrogel dengan tekstur kasar, rapuh atau mudah patah. Hal ini dikarenakan komposisi etil selulosa pada masing-masing formula yang terlalu banyak sehingga membran hidrogel tidak bisa dilakukan pengujian lebih lanjut. Etil selulosa yang terlalu banyak memungkinkan sedikitnya ikatan silang antara etil selulosa dengan polimer lain yaitu gelatin, sehingga menghasilkan membran hidrogel yang mudah rusak. Pengujian secara organoleptik yang kedua menghasilkan membran dengan sedikit pori, keras atau tidak elastis. Hal tersebut dikarenakan komposisi gelatin yang terlalu banyak karena berdasarkan sifat gelatin yang menghasilkan ikatan yang kuat dengan gelatin atau polimer lain. Selain itu berdasarkan sifat gelatin yang dipengaruhi oleh berat molekul dan panjang ikatan rantai asam aminonya. Semakin panjang ikatan rantai asam amino maka berat molekul gelatin semakin besar sehingga ikatan yang terbentuk semakin padat dan kuat. Sedikitnya pori yang terbentuk dikarenakan dari faktor pengadukan yang menyebabkan lelehnya butiran es sebelum dilakukan

pelelehan. Penelitian ketiga menghasilkan membran hidrogel yang lebih baik, terdapat pori-pori dan lebih elastis dibandingkan dengan pengujian sebelumnya. Pengujian warna dan kehalusan dilakukan dengan menggunakan metode pembedaan yaitu membandingkan semua formula yang menghasilkan warna kuning opak (kuning tidak bening) serta tekstur yang halus atau rata. Kehalusan membran hidrogel juga dikarenakan penambahan gliserin (De Caro, 1997). Pengujian tingkat elastisitas dilakukan dengan menarik membran hidrogel secara berulang untuk semua formula. Analisis organoleptik dari ketiga formula dapat dilihat pada Tabel 2.

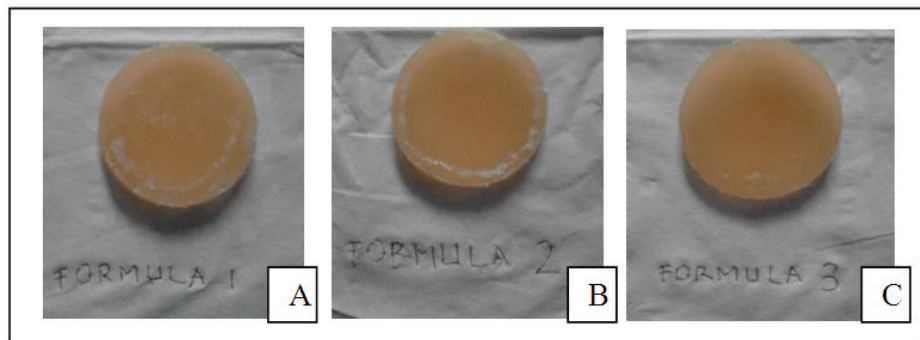
Tabel 1. Analisis Organoleptik

Formula	Warna	Kehalusan	Elastisitas
1	Kuning opak	✓	+++
2	Kuning opak	✓	+
3	Kuning opak	✓✓	++

Keterangan : ✓ halus, ✓✓ sangat halus, + kurang elastis, ++ elastis, +++ sangat elastis

Data di atas menggambarkan karakteristik fisik dari masing-masing membran hidrogel yang secara organoleptik tidak terdapat perbedaan yang signifikan baik formula 1 (F1), formula 2 (F2), maupun F3. F1 memberikan hasil elastisitas lebih tinggi sehingga tidak mudah patah atau rapuh, sedangkan pada F3 memiliki tekstur permukaan membran hidrogel yang lebih halus dan komposisi gelatin lebih banyak dibandingkan yang lain sehingga mudah diatur pada saat penuangan ke *petridish*. Secara visual hasil dapat dilihat pada Gambar 8. Hasil pengujian tersebut tidak sama dengan penelitian yang dilakukan oleh

Rofifah (2015), yang menyebutkan bahwa patch hidrogel berbasis HPMC dan PVP menghasilkan karakteristik fisik berwarna bening dan transparan.



Gambar 3. Membran Hidrogel Berpori (A) Formula 1 Etil selulosa : Gelatin (1:1) ; (B) Formula 2 Etil selulosa : Gelatin (1:1,5) ; (C) Formula 3 Etil selulosa : Gelatin (1:2)

b. Analisis Persen *Age Swelling*

Persen *age swelling* menggambarkan kemampuan membran hidrogel untuk mengembang yang menunjukkan kemampuan suatu material untuk menyerap suatu larutan, baik air maupun cairan tubuh hingga mencapai keadaan setimbang. Membran hidrogel berpori memiliki karakteristik fisik yang perlu dianalisa, salah satunya adalah kemampuan untuk mengembang dalam larutan NaCl fisiologis yang merepresentasikan cairan tubuh (Mohsen *et al*, 2011).

Uji persen *age swelling* dilakukan dengan menimbang berat kering sampel yang telah dipotong dengan ukuran tertentu kemudian ditambahkan 2 ml NaCl 0,9%. Larutan NaCl fisiologis merupakan salah satu jenis larutan garam yang umumnya digunakan untuk pengujian daya serap terhadap air (Erizal, 2010). Sampel diinkubasi selama 5 menit pada

suhu 37°C yang mempresentasikan suhu tubuh manusia. Setelah diinkubasi, sampel dibilas dengan aquadest untuk menghindari terjadinya ikatan silang dengan polimer. Kemudian dihilangkan sisa aquadestnya dengan menggunakan kertas adsorben. Selanjutnya dilakukan penimbangan berat setelah perendaman.

Analisis statistika kebermaknaan data dari uji persen *age swelling* membran hidrogel dilakukan menggunakan analisis *Shapiro-Wilk*. Hasil yang didapat dari analisis statistika menunjukkan bahwa data uji persen *age swelling* terdistribusi normal dengan nilai $P > 0,05$ (Lampiran 6). Data terdistribusi normal sehingga analisis statistika data dilanjutkan menggunakan uji *one way ANOVA*. Uji *one way ANOVA* dilakukan untuk menganalisis variasi yang terjadi pada data yang didapat. Tabel uji statistik menggunakan *one way ANOVA* terlihat nilai $P > 0,05$ (Lampiran 6) yang mengidentifikasikan tidak adanya perbedaan yang bermakna dari setiap formulasi. Hal tersebut dapat dibuktikan dengan analisis lanjut menggunakan *Post Hoc Test Tukey* seperti yang tertera pada lampiran 6 yang menunjukkan bahwa perbedaan jumlah komposisi etil selulosa dengan gelatin pada formula 1, 2, dan 3 tidak mempengaruhi pengembangan. Data hasil perhitungan uji persen *age swelling* (Lampiran 2) pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Data Uji Persen *Age Swelling*

Formula	Avr ± SD (%)
F1 (1:1)	23,73 ± 9,20
F2 (1:1,5)	19,59 ± 3,88
F3 (1:2)	5,22 ± 2,29

Pada Tabel 3 persen *age swelling* tertinggi terdapat pada F1 dengan perbandingan konsentrasi etil selulosa : gelatin (1:1) sebesar 23,73% ±9,20%. Komposisi etil selulosa pada F1 lebih banyak dibandingkan formula 2 dan 3 menyebabkan membran hidrogel mampu mengembang dan menyerap air lebih banyak sehingga terbentuk sebuah pola $F1 > F2 > F3$.

Ikatan silang dalam hidrogel mempunyai kemampuan menyimpan air di dalam struktur porinya dengan cara meregangkan rantainya sehingga dapat membentuk lapisan gel. Adanya peregangan rantai tersebut menyebabkan membran hidrogel dapat mengembang dalam air (*swelling*) namun tetap dapat mempertahankan bentuk aslinya dan bersifat tidak larut dalam air. Proses regenerasi jaringan membutuhkan asupan nutrisi sebagai faktor pertumbuhan dan hormon sehingga mengembangnya membran hidrogel mendukung proses tersebut. Semakin tinggi kandungan air yang mampu diserap, maka semakin baik sifat biokompatibilitas suatu membran hidrogel (Ganji *et al*, 2010).

Biokompatibilitas membran hidrogel secara umum berhubungan dengan sifat hidrofilik. Banyaknya gugus hidrofilik, ikatan silang dan struktur pori mempengaruhi kemampuan *swelling* dari membran hidrogel

berpori. Gelatin merupakan polimer yang bersifat hidrofilik sehingga ketika berada dalam air atau cairan tubuh maka akan terjadi pengembangan (*swelling*) hal ini dikarenakan pada prinsipnya gugus hidrofil yang dimiliki oleh gelatin mampu mengikat air lebih banyak karena gugus hidrofil pada gelatin membuat molekul dari gelatin memiliki afinitas tinggi terhadap air sehingga jika gelatin kontak dengan air maka terjadi hidrasi dan peregangan rantai (Maddu *et al*, 2006). Gelatin yang dicampur dengan air memiliki ikatan hidrogen pada strukturnya, yang memungkinkannya untuk melakukan ikatan silang dengan gelatin ataupun polimer lainnya. Ikatan hidrogen yang terbentuk disertai dengan penambahan suhu akan memberikan kesempatan kepada etil selulosa untuk membentuk ikatan silang dengan gelatin.

Dutta (2012), menyatakan bahwa semakin sedikit ikatan silang maka persen *age swelling* semakin tinggi, hal ini dibuktikan dengan hasil penelitiannya persen *age swelling* dari hidrogel berbasis PVA, PEG dan CaCl_2 dalam waktu 3 hari mencapai 350-375% pada jaringan kulit. Hal serupa juga telah dijelaskan oleh Omidian *et al*, (1994) bahwa semakin tingginya ikatan silang maka densitas ikatan silang juga akan semakin tinggi. Ikatan silang yang tinggi menyebabkan ruang kosong (*pores*) antara ikatan silang semakin rendah atau sempit sehingga kemampuan *swelling* dari suatu polimer menurun. Hasil penelitian pada F1 memiliki persentase *age swelling* yang paling tinggi hal ini dikarenakan faktor-faktor yang tidak dikategorikan. Menurut Gurdag (2013), selulosa

memiliki struktur yang menyebabkan selulosa bersifat kristalin dan tidak mudah larut, namun di dalam selulosa juga terbentuk rangkaian struktur yang tidak tersusun secara teratur sehingga membentuk daerah nonkristalin atau amorf yang menyebabkan selulosa mudah mengembang. Derajat kristalin selulosa dipengaruhi oleh perlakuan yang diberikan seperti pengadukan. Selain itu mengembangnya membran hidrogel juga disebabkan oleh semakin banyaknya gugus aktif dari etil selulosa yang tidak mengalami *crosslink* dengan gelatin. Menurut Rofifah (2015), gugus aktif tersebut akan dimanfaatkan oleh air untuk membentuk ikatan hidrogen sehingga membran hidrogel mudah mengembang.

c. *Weight Loss*

Membran hidrogel berpori sebagai *scaffold* akan mengalami degradasi seiring dengan pertumbuhan jaringan yang dikehendaki. Kehilangan berat atau *weight loss* pasti terjadi karena dalam aplikasinya membran hidrogel akan selalu terpapar cairan fisiologis selama proses regenerasi. Dalam penelitian ini digunakan interval perendaman dalam NaCl 0,9% yang berbeda yaitu 15 dan 30 menit. Perbedaan waktu menjadi faktor dari jumlah berat yang hilang (*weight loss*) yaitu semakin lama waktu perendaman semakin banyak berat yang hilang disetiap membran hidrogel (Dutta, 2012). Sampel yang telah direndam kemudian dikeringkan dan ditimbang untuk mengetahui berat kering setelah

perendaman. Hasil penelitian pada waktu 15 menit dan 30 menit dapat dilihat pada Tabel 4 dan 5.

Tabel 3. Data Uji *Weight Loss* t = 15 menit

Formula	Avr ± SD (%)
FI (1:1)	0,54 ± 0,13
F2 (1:1.5)	0,45 ± 0,01
F3(1:2)	0,71 ± 0,09

Tabel 4. Data Uji *Weight Loss* t = 30 menit

Formula	Avr ± SD (%)
FI (1:1)	0,82± 0,05
F2 (1:1,5)	0,91± 0,06
F3 (1:2)	0,92± 0,05

Berdasarkan analisis statistik pada hasil uji *weight loss* menggunakan *Shapiro-Wilk* pada interval waktu 15 menit didapat bahwa data terdistribusi normal dengan nilai $P > 0,05$ (Lampiran 7) untuk F1 dan F3 sedangkan F2 tidak terdistribusi normal ($P < 0,05$). Oleh karena itu dilakukan analisis *Kruskal Wallis* (Lampiran 7). Hasil analisa dengan menggunakan metode *Kruskal Wallis* maka didapat hasil bahwa hipotesis 0 (H_0) antara formula 1:2 dan formula 1:3 adalah dapat diterima sehingga tidak terdapat perbedaan, sedangkan H_0 pada formula 2:3 terdapat perbedaan karena $p < 0,05$. Hasil uji *weight loss* pada interval waktu 30 menit didapat bahwa data dari ketiga formula adalah terdistribusi normal dengan nilai $p > 0,05$ dan H_0 tidak terdapat perbedaan (Lampiran 8).

Hasil analisis nilai *weight loss* pada interval 15 menit perbandingan komposisi pada F2 yaitu etil selulosa : gelatin (1:1,5) memiliki nilai rata-rata *weight loss* paling kecil yaitu $0,45\% \pm 0,01\%$ dibanding formula yang lain memungkinkan ikatan *crosslink* yang terbentuk antara etil selulosa dan gelatin lebih kuat sehingga membran lebih lama bertahan dalam proses degradasi. Hal tersebut disebabkan karena adanya pengaruh dari banyaknya ikatan hidrogen yang terbentuk, suhu yang dapat mempengaruhi kemampuan etil selulosa dan gelatin untuk membentuk ikatan silang sehingga dapat menyebabkan perbedaan kerapatan ikatan silang pada membran hidrogel.

Hasil analisis interval waktu 30 menit pada F1 memiliki nilai *weight loss* paling kecil yaitu $0,82\% \pm 0,05\%$. Ketiga formula tidak menunjukkan perbedaan signifikan sehingga perbedaan komposisi pada ketiga formula tidak mempengaruhi *weight loss* dan membentuk sebuah pola $F1 < F2 < F3$. Pola tersebut dapat terjadi karena komposisi jumlah gelatin pada F3 lebih tinggi dibandingkan dengan F1 dan F2. Komposisi jumlah gelatin yang tinggi mengakibatkan nilai *weight loss* tinggi. Menurut Dutta (2012), semakin tinggi nilai *weight loss* maka semakin cepat membran hidrogel mengalami degradasi hal ini karena adanya hidrasi yang tinggi sehingga rantai antar molekul tidak dapat menahan kekuatan dari luar dan mengakibatkan hilangnya fungsi *scaffold* karena membran hidrogel lebih cepat larut sebelum terbentuknya sel normal, sedangkan komposisi jumlah etil selulosa yang lebih banyak

menghasilkan nilai *weight loss* paling kecil karena etil selulosa memiliki kecepatan degradasi yang lebih lambat dan mampu membentuk karakteristik membran yang kuat sehingga mampu bertahan lebih lama dalam proses degradasi (Chandel *et al*, 2013). Penelitian ini menghasilkan nilai *weight loss* yang jauh lebih kecil dari penelitian sebelumnya. Dutta (2012) menyatakan bahwa agar hidrogel dapat diterima oleh jaringan yang luka, hidrogel berbasis PVA, PEG dan CaCl₂ menghasilkan nilai *weight loss* kurang dari 19% selama 72 jam.

d. Kekuatan Tarik (*Tensile Strength*)

Uji *tensile strength* merupakan uji karakteristik membran hidrogel berpori yang digunakan untuk mengetahui kekuatan tarik dari membran hidrogel. Membran hidrogel harus memiliki sifat mekanik yang mendekati sifat mekanik jaringan atau organ tubuh yang dituju sehingga mampu bertahan selama proses regenerasi sel dan tidak mengalami perubahan struktur ketika dikenai gaya dari luar. *Ultimate Tensile Strength* (UTS) merupakan hasil konversi besarnya beban atau gaya yang diberikan terhadap luas penampang (A) membran yang akan diukur (Lampiran 3). Pengukuran gaya putus (F) membran dilakukan dengan memberi beban atau gaya (F) pada membran sampai terlampaui daerah elastisitasnya kemudian mencatat lamanya waktu pembebanan sampai membran hidrogel mengalami deformasi dan akhirnya putus (*International ASM*, 2004)

Menurut jurnal *International ASM* (2004), terdapat beberapa parameter untuk menilai kekuatan tarik atau *tensile strength* dari suatu benda padat salah satunya pada penelitian ini parameter pengukuran yang diperoleh adalah nilai k yakni tingkat elastisitas bahan yang dikonversikan menjadi besaran konstanta elastisitas (N/m) dan nilai F sebagai gaya putus bahan yang dikonversikan menjadi besaran *Ultimate Tensile Strength* (UTS) (Lampiran 4). Menurut hukum Hooke, gaya (F) atau beban yang diberikan berbanding lurus dengan perubahan panjang atau regangan. Akan tetapi apabila suatu benda telah mencapai batas elastisnya maka hukum Hooke tidak berlaku, ini ditandai dengan titik luluh yaitu batas antara daerah elastis dengan plastis (Cocco, 2010). Daerah elastis adalah daerah dimana suatu bahan memiliki kemampuan untuk kembali ke wujud asalnya setelah diberi beban, sedangkan daerah plastis adalah daerah dimana bahan tidak dapat kembali ke wujud asalnya (Kailas, 2012).

Hasil analisa nilai konstanta elastisitas (k) pada formulasi membran hidrogel berdasarkan uji statistik adalah ($P > 0,05$) yaitu tidak memiliki perbedaan yang signifikan dari ketiga formulasi (Lampiran 9). Perhitungan secara lengkap untuk nilai konstanta elastisitas dan *Ultimate Tensile Strength* (UTS) dapat dilihat pada lampiran. Berikut adalah data konstanta elastisitas (k) membran hidrogel berpori.

Tabel 5. Data Konstanta Elastisitas (k)

Formula	Avr ± SD (N/m)
F1	59,22 ± 15,68
F2	48,47 ± 20,58
F3	53,57 ± 19,40

Nilai konstanta elastisitas (k) dari ketiga formula yang diuji tidak memberikan pola. Nilai konstanta elastisitas membran hidrogel jika semakin kecil nilai konstanta maka membran hidrogel akan bersifat elastis yang berarti membran hidrogel membutuhkan sejumlah gaya (N) yang kecil untuk menghasilkan setiap meter (m) penambahan panjang. Elastisitas membran hidrogel yang bervariasi ini tergantung dari jenis dan sifat material yang digunakan. Menurut Angeline dan Lannie (2011), etil selulosa memiliki sifat deformasi elastis yang lebih tinggi dari gelatin hal ini menghasilkan konstanta elastisitas yang paling kecil. Etil selulosa mampu membentuk struktur membran hidrogel yang kuat dan kental tetapi memiliki sifat deformasi elastis di mana akan terjadi perubahan bentuk pada membran saat gaya (F) atau beban mulai bekerja dan akan kembali ke bentuk dan ukuran semula ketika gaya (F) atau beban ditiadakan. Penelitian ini menghasilkan konstanta elastisitas (k) paling kecil pada F2 sehingga membran hidrogel pada F2 adalah yang paling elastis. Hal ini tidak sesuai dengan teori dikarenakan berat sampel pada saat pengujian tidak sama.

Besarnya *Ultimate Tensile Strength* (UTS) yang didapatkan dalam membran hidrogel dengan berbagai perbandingan formulasi ditunjukkan pada Tabel 7 yang diungkapkan dalam satuan Mega Pascal (MPa).

Tabel 6. Data *Ultimate Tensile Strength* (UTS)

Formula	Gaya Putus/F (N)	Luas Penampang/A (m²)	Tempo (menit)	UTS (MPa)
F1	0,686	0,765 x 10 ⁻⁶	3	0,8967
F2	0,686	0,457 x 10 ⁻⁶	4	1,5010
F3	0,686	0,688 x 10 ⁻⁶	4	0,9970

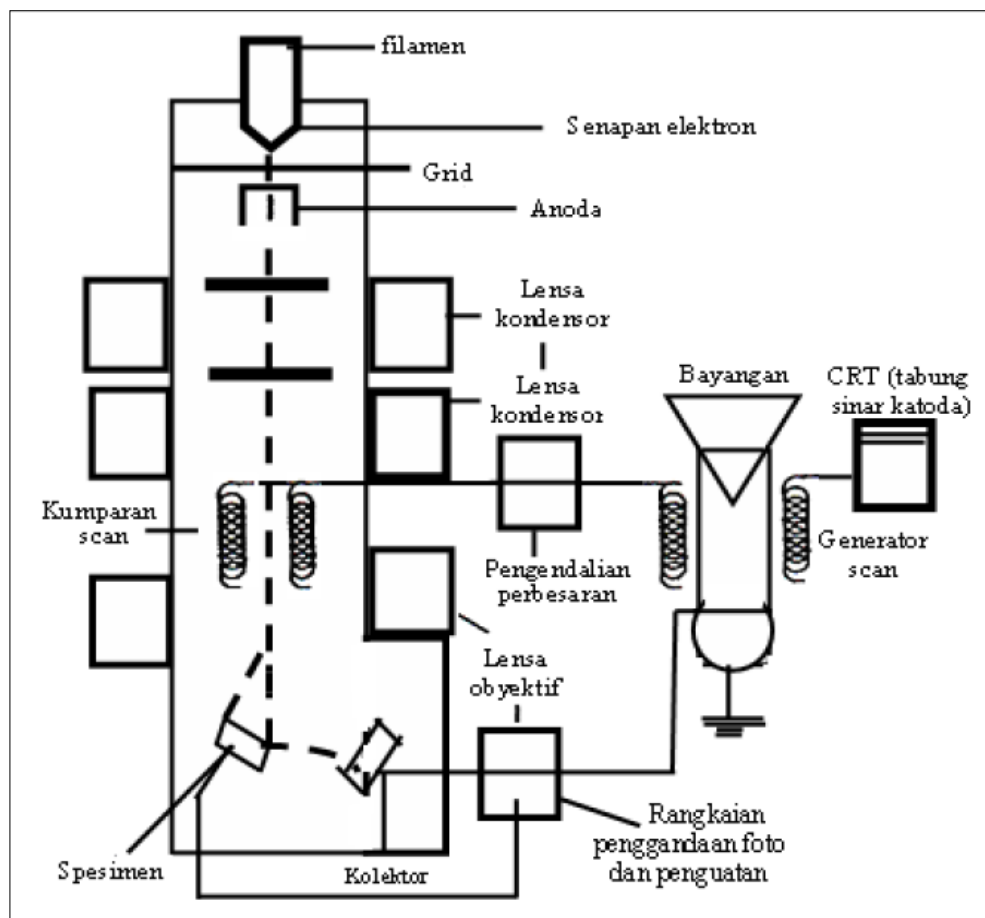
Hasil analisis dari perhitungan UTS pada ketiga formula tidak membentuk sebuah pola (Tabel 8). F1 memiliki nilai *Ultimate Tensile Strength* (UTS) paling kecil dengan perbandingan etil selulosa dan gelatin (1:1) yaitu sebesar 0,8967 MPa dengan luas penampang (A) membran paling kecil yaitu 0,765 x 10⁻⁶. Tempo pada F1 memiliki waktu hanya 3 menit yang menandakan bahwa dalam waktu 3 menit membran hidrogel sudah tidak mampu menahan beban yang diberikan, sehingga dapat patah. Waktu atau tempo menunjukkan lamanya membran hidrogel mampu menahan beban, semakin lama tempo maka membran hidrogel semakin kuat dan kaku. Ketidaksesuaian dengan teori ini dikarenakan panjang dan tebal sampel pada saat pengujian tidak sama sehingga menghasilkan luas penampang yang tidak sama pula. Nilai UTS pada formulasi membran hidrogel yang telah dianalisis tersebut jauh lebih kecil dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Jacquemoud *et al*, (2007) tentang sifat mekanik kulit menunjukkan bahwa kulit memiliki nilai UTS (*Ultimate tensile strength*) sebesar 3±1,5 MPa.

Besarnya *Ultimate Tensile Strength* (UTS) membran hidrogel menunjukkan kemampuan membran untuk menahan beban atau gaya (F) yang diberikan sampai membran mengalami perubahan bentuk. Berdasarkan teori yang dikemukakan oleh Arvanitoyannis *et al* (1997), komposisi gelatin yang lebih banyak menghasilkan nilai UTS lebih besar dibanding formula lain ini disebabkan oleh sifat deformasi plastis, bentuk anyaman dan protein dalam kolagen yang dimiliki gelatin. Penelitian yang dilakukan oleh Junianto *et al* (2006), menyatakan bahwa ikatan struktur suatu membran hidrogel khususnya yang berbasis gelatin dipengaruhi oleh berat molekul dan panjang ikatan rantai asam amino penyusunnya, semakin panjang ikatan rantai asam amino maka berat molekul gelatin semakin besar, sehingga ikatan yang terbentuk semakin padat dan kuat dan menghasilkan UTS yang lebih besar.

e. SEM (*Scanning Electron Microscope*)

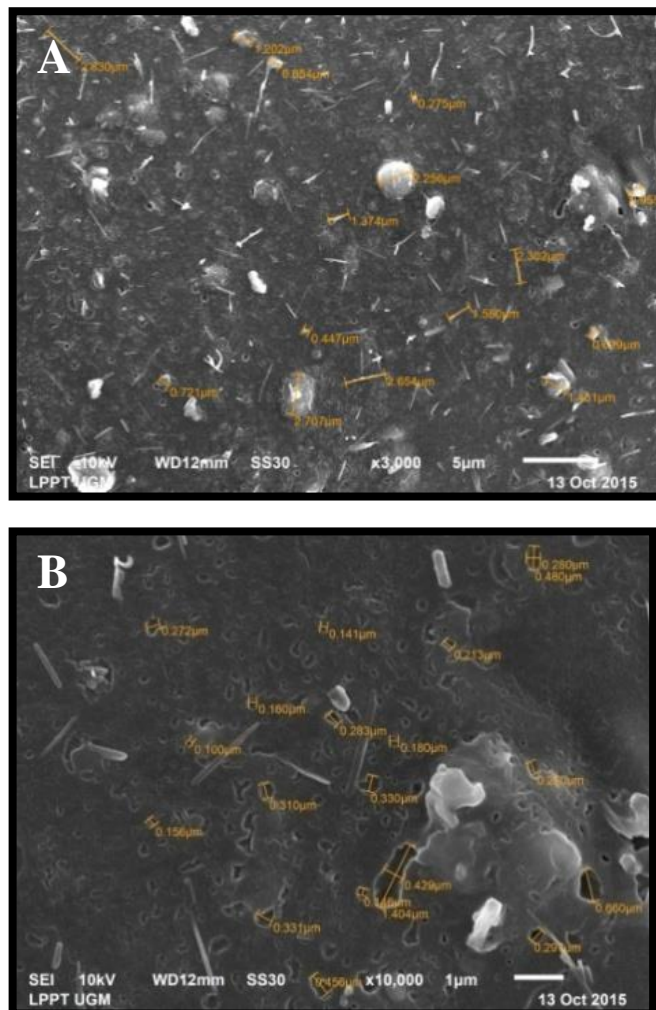
Analisis struktur dari membran hidrogel berpori dilakukan pada formula 3 sebagai representasi sampel karena memiliki pemerian fisik yang lebih bagus. Alat yang digunakan adalah *Scanning Electron Microscope* (SEM). Mikroskop ini digunakan untuk mempelajari struktur permukaan obyek, yang secara umum diperbesar antara 1.000-40.000 kali. Menurut El Fray *et al* (2007), prinsip kerja alat ini adalah sumber elektron dari filamen yang terbuat dari tungsten memancarkan berkas elektron. Elektron tersebut berinteraksi dengan bahan (spesimen) maka akan menghasilkan elektron sekunder. *Scanning* pada permukaan bahan yang

dikehendaki dapat dilakukan dengan mengatur *scanning generator* dan *scanning coils*. Elektron sekunder hasil interaksi antara elektron dengan permukaan spesimen ditangkap oleh detektor SE (*Secondary Electron*) yang kemudian diolah dan diperkuat oleh *amplifier* dan kemudian divisualisasikan dalam monitor sinar katoda (CRT). Permukaan membran hidrogel akan langsung berinteraksi dengan cairan atau lingkungan fisiologis oleh karena itu morfologi permukaan digunakan sebagai perantara bagi sel untuk tumbuh ke jaringan yang dikehendaki. Skema dasar SEM disajikan pada Gambar 9.



Gambar 4. Skema Dasar SEM (El Fray *et al*, 2007)

Bentuk morfologi dan struktur membran hidrogel berpori dapat dilihat pada Gambar 10. Gambar 10 (A) menunjukkan hasil SEM pada perbesaran 3.000 kali dengan ukuran pori terbesar 2,830 μm , gambar (B) pada perbesaran 10.000 kali dengan ukuran pori terbesar 1,404 μm .



Gambar 5. Hasil Uji SEM Formula 3 (A) Perbesaran 3000x (B) Perbesaran 10.000x

Perbedaan ukuran pori disebabkan oleh adanya pengaruh dari luar seperti perubahan suhu secara drastis yang tidak terkontrol saat proses pembekuan dan pelelehan hidrogel. Perbedaan ukuran juga disebabkan oleh kecepatan dan lama pengadukan campuran polimer saat pembuatan

membran hidrogel serta perbedaan sisi permukaan yang diuji. Chiono *et al* (2009), mengatakan bahwa dalam penggunaannya sebagai *scaffold*, material harus memiliki bentuk morfologi yang sesuai dengan jaringan yang dituju untuk menghindari terbentuknya jaringan parut pada saat proses regenerasi. Berdasarkan hasil penelitian dengan metode *ice particle leaching* yang dianalisis menggunakan SEM, bentuk morfologi membran hidrogel berpori yang potensial untuk regenerasi tidak terbentuk secara sempurna karena hanya sebagian permukaan membran yang terbentuk pori (Gambar 9). Dalam penelitian ini uji SEM hanya dilakukan pada F3 yaitu dengan perbandingan basis etil selulosa dan gelatin (1:2) yang mengandung proporsi gelatin paling banyak diantara kedua formula lainnya. F3 memiliki proporsi gelatin yang banyak sehingga dapat menghasilkan permukaan membran yang tampak berongga jika dilihat secara visual disebabkan perbandingan gelatin belum mampu menutupi polimer dan zat tambahan lainnya (Dlukha, 2014). Menurut Gilson (2006), pori yang terbentuk dengan menggunakan metode *ice particle leaching* pada membran memiliki ukuran 400 μm . Telah diungkapkan sebelumnya pada metode *ice particle leaching* bahwa perbandingan volume polimer dan volume pelarut juga mempengaruhi pada hasil visualisasi pori menggunakan SEM, dimana hal tersebut mampu mempengaruhi volume ruang kosong atau pori yang terbentuk setelah pelelehan pelarut (Dhirisma, 2014)

