

RESEARCH ARTICLE

Perbedaan *Compressive Strength Scaffold* Kombinasi Kitosan dan Ekstrak Aloe Vera dengan Pelarut Air dan Etanol

*(The Difference Compressive Strength of Scaffold
Combination Chitosan and Aloe vera Extracted Water and
Ethanol)*

Dwi Ayu Trisnawati*, Sularsih**, Widaningsih***

*Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Ilmu Material Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: Scaffold can be use in bone regeneration, but it should have similarities characteristic to a natural bone such as compressive strength that supported the process of growth and development of bone. This research use scaffold that made from chitosan and Aloe vera. Chitosan well-known as osteoconductive material, meanwhile Aloe vera was osteoinductive material. **Purpose:** The aim of this research was to compare compressive strength scaffold combinations of chitosan and Aloe vera extracted water and ethanol. **Materials and Methods:** Research design using post test only control group design with 36 scaffolds divided into 6 groups. Group 1 was scaffold Aloe vera extracted water (AVa), group 2 was scaffold Aloe vera extracted ethanol (AVe), group 3 was scaffold combination chitosan and Aloe vera extracted water 1: 1 (k-AVa1), group 4 was the scaffold combination of chitosan and Aloe vera extracted ethanol 1: 1 (k-AVe1), group 5 was scaffold combination of chitosan and Aloe vera extracted water 1: 2 (k-AVa2), and group 6 was scaffold combination of chitosan and Aloe vera ethanol extract 1: 2 (k-AVe2). Compressive strength test used Universal Testing Machine (Shimadzu Autograph-AGS-1kNX and using software Trapezium X). Data were analyzed using One Way ANOVA and Games Howell test. **Results:** The result of compressive strength AVa=1.36 MPa, AVe=1.03 MPa, k-AVa1=0.27 MPa, k-AVe1=0.11 MPa, k-AVa2=0.38 MPa, and k-AVe2=0.29 MPa. All groups have significant differences except AVa & AVe and k-AVa1 & K-AVe2 ($p>0,05$). **Conclusion:** There was difference between compressive strength scaffold combinations of chitosan and Aloe vera extracted water and ethanol, and the most highest compressive strength is AVa.

Keywords: Scaffold, chitosan, Aloe vera extracted water, Aloe vera extracted ethanol, compressive strength.

Correspondence: Sularsih, Department of Dental Materials, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 087852227101, Email: larsihdentist@gmail.com

PENDAHULUAN

Scaffold merupakan suatu struktur tiga dimensi yang digunakan sebagai media penyangga sementara untuk mendukung proses pertumbuhan dan pengembangan jaringan baru. Sebagai material *tissue engineering*, *scaffold* berperan sebagai material yang digunakan untuk kerangka/*framework* sintesis yang diimplankan pada jaringan.^{1,2} *Scaffold* dapat memicu pertumbuhan tulang yang memiliki fungsi dan sifat mekanik yang bagus. Sebagai material pembentuk tulang, *scaffold* akan hilang secara perlahan-lahan (*biodegradable*) dan tergantikan oleh sel-sel osteoblas.³

Pengembangan biomaterial baru untuk *tissue engineering* memberikan dasar ilmiah dalam menciptakan *scaffold* yang dapat meregenerasi dan melakukan perbaikan pada jaringan.⁴ *Scaffold* dibuat dari berbagai macam biomaterial agar dapat memenuhi syarat yang ideal. Apabila *scaffold* dibuat tanpa penggabungan akan ditemui banyak kekurangan seperti kekuatan mekanis yang lemah sehingga menyebabkan *scaffold* bersifat rigid.⁵

Kitosan telah banyak digunakan dalam bidang medis terutama sebagai bahan untuk *bone graft* karena sifatnya yang *biocompatible*, *biodegradable*, dan *bioresorbable* pada jaringan, imunogenisitas yang rendah, antibakteri, antifungistatik dan non-toksik.⁶ Kitosan berasal dari pengolahan kitin yang banyak terdapat dalam cangkang luar *Crustaceae*, serangga, dan beberapa jenis jamur.⁷ Aplikasi kitosan untuk *tissue engineering* yaitu sebagai material *scaffold*. Sebagai *bone repair*, kitosan dapat mempercepat pembentukan

tulang baru karena strukturnya sama dengan *glycosaminoglycans* dan *hyaluronic acid* yang terdapat pada kartilago.⁸

Aloe vera memiliki sifat antibakteri, antiinflamasi, antijamur, antiseptik, antiviral, antioksidan, mempercepat penyembuhan luka, dan sebagai *growth factor*, sehingga *Aloe vera* berpotensi sebagai bahan *tissue engineering* karena dapat meningkatkan migrasi sel, proliferasi, dan pertumbuhan sel pada suatu jaringan. Glucmannan polisakarida kaya mannose, dan giberelin, merupakan *growth factor* pada *Aloe vera* yang dapat berinteraksi dengan reseptor faktor pertumbuhan pada jaringan sehingga merangsang aktivitas dan proliferasi fibroblas. Acemannan merupakan komponen aktif yang terdapat dalam *Aloe vera* yang merupakan golongan dari polisakarida berperan untuk meningkatkan proliferasi sel fibroblas *Aloe vera* menstimulasi fibroblas untuk regenerasi, dan meningkatkan kekuatan tarik dan jumlah kolagen dalam kerusakan jaringan.^{9, 10, 11}

Etanol dan air dapat digunakan sebagai pelarut karena bersifat polar, universal, dan mudah didapat. Pelarut yang dianggap ideal dan sering digunakan adalah alkohol atau campurannya (etanol) dengan air karena keduanya merupakan pelarut yang baik untuk hampir semua senyawa seperti saponin dan flavonoid.¹² Ekstrak *Aloe vera* dengan teknik maserasi menggunakan pelarut air dapat meningkatkan kepadatan serabut kolagen pada hari ke-7 pasca ekstraksi gigi. Air dipertimbangkan sebagai pelarut karena murah dan mudah diperoleh, bersifat stabil, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan memiliki

konstanta dielektrik tinggi.¹³ Penelitian lain juga membuktikan *scaffold* kombinasi kitosan 1% dan ekstrak etanol 70% *Aloe vera* dengan perbandingan 1:1 efektif dalam meningkatkan proliferasi sel osteoblas untuk mempercepat regenerasi tulang setelah dilakukan pencabutan gigi pada hewan coba *Cavia cobaya*.¹⁴

Kombinasi antara kitosan dan ekstrak *Aloe vera* dapat meningkatkan struktur, komposisi dan biodegradabilitas dari *scaffold*.⁶ Kombinasi kitosan dan ekstrak *Aloe vera* akan menghasilkan degradasi, kekerasan, potensi antibakteri yang tinggi, dan sifat mekanik yang baik. Keduanya memiliki kompatibilitas yang baik dengan *primary human dermal fibroblast*.¹⁵

Scaffold yang ideal untuk *tissue engineering* yaitu memiliki sifat mekanik yang sesuai dengan jaringan yang akan digantikan, biokompatibel, *bioresorbable*, memiliki karakteristik struktur yang optimal berupa ukuran pori, interkonektivitas pori, serta permeabilitas yang dapat mempermudah penyampaian nutrisi.⁵ Salah satu uji mekanik yang perlu dilakukan pada *scaffold* yaitu *compressive strength*. Uji *compressive strength* merupakan uji kekuatan maksimum suatu bahan untuk menerima tekanan hingga bahan tersebut patah.¹⁶ *Scaffold* harus memiliki nilai *compressive strength* yang baik, karena salah satu sifat ideal *scaffold* ialah mempunyai kekuatan mekanik cukup kuat selama tindakan implantasi untuk menopang sementara proses pertumbuhan jaringan baru.¹⁷ *Scaffold* yang diaplikasikan pada tulang kanselus atau trabekular harus memiliki kekuatan mekanis yang setara dengan kekuatan mekanis tulang tersebut, sehingga setidaknya memiliki

nilai *compressive strength* 0,5-50 MPa, yang mampu mengkompensasi apabila menerima tekanan seperti beban kunyah.¹⁸

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini tergolong jenis penelitian *true experimental laboratoris*, dengan menggunakan *Post Test Only Control Group Design*.¹⁹ Penelitian ini memakai sampel *scaffold* yang dibagi menjadi 6 kelompok yang terdiri dari K1 yaitu kelompok *scaffold* ekstrak air *Aloe vera*, K2 yaitu kelompok *scaffold* ekstrak etanol *Aloe vera*, K3 yaitu kelompok sediaan *scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak air *Aloe vera* 1:1, K4 yaitu kelompok *scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak etanol *Aloe vera* 1:1, K5 yaitu kelompok *scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak air *Aloe vera* 1:2, dan K6 yaitu kelompok *scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak etanol *Aloe vera* 1:2.

Kitosan gel 1% dibuat dengan mencampur 1 gram pada 100 ml asam asetat 2% kemudian diaduk selama 15 menit dan dilanjutkan dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 1 jam. Larutan dinetralkan dengan NaOH hingga pH 7 (netral). Kemudian *disentrifuge* 2000 rpm selama 1 jam dan disaring dengan kertas saring.

Ekstraksi pada *Aloe vera* dilakukan dengan menggunakan teknik maserasi. *Aloe vera* sebanyak 30 kg dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran. Kemudian duri dan kulit luar pada daun *Aloe vera* dihilangkan menggunakan pisau. *Aloe vera* yang telah dikupas dipotong kecil-kecil dan ditimbang dengan timbangan digital dengan. Setelah itu *Aloe vera* dikeringkan di dalam oven

selama 4 hari dengan suhu 50⁰ C dan diblender untuk mendapatkan serbuk. Serbuk kemudian ditimbang, selanjutnya dicampur air dengan perbandingan 1:14 dan etanol dengan perbandingan 1:4. Larutan tersebut diaduk secara manual selama 15 menit menggunakan pengaduk kayu. Hasil maserasi disaring sebanyak 1 kali dengan menggunakan kain saring. Hasil penyaringan diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator*.. Untuk membuat ekstrak *Aloe vera* dengan konsentrasi 50% dengan cara melarutkan ekstrak *Aloe vera* dengan Na-CMC 3,5 % dengan perbandingan 1:1.

Pembuatan gel kombinasi kitosan 1% dan ekstrak air atau etanol *Aloe vera* 50% dilakukan dengan cara mencampur masing-masing kitosan dengan ekstrak air atau etanol *Aloe vera* 50% dengan perbandingan volume 1:1 dan 1:2. Pencampuran dilakukan secara manual hingga didapatkan sediaan yang homogen.

Pembuatan *scaffold* yaitu dengan *freeze drying*. Tahap awal yaitu alat cetak *scaffold* dibagi menjadi 6 jenis *scaffold* yaitu *scaffold* ekstrak air *Aloe vera*, *scaffold* ekstrak etanol *Aloe vera*, *scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak air *Aloe vera* dengan perbandingan 1:1, *scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak air *Aloe vera* dengan perbandingan 1:2, *scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak etanol *Aloe vera* dengan perbandingan 1:1, dan *scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak etanol *Aloe vera* dengan perbandingan 1:2 sebanyak 36 lubang/bahan dengan diameter 7 mm dan tinggi 15 mm berbentuk tabung. Cetakan *scaffold* diisi hingga penuh kemudian dimasukkan ke dalam *freezer* dengan suhu -80⁰ C selama 24 jam lalu dilakukan *freeze dry* 4 hari.

Pengukuran *compressive strength* menggunakan alat *universal testing machine* (Shimadzu Autograph-AGS-1kNX dengan menggunakan software Trapezium X).

HASIL

Tabel 1. Rata-rata dan simpangan baku penghitungan *compressive strength scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak *Aloe vera* dengan pelarut air dan etanol dengan satuan MPa (N/mm²).

Kelompok	Rerata ± Standar Deviasi
K1	1.36 ± 0.28
K2	1.03 ± 0.20
K3	0.27 ± 0.05
K4	0.11 ± 0.04
K5	0.38 ± 0.03
K6	0.29 ± 0.04

K1: Kelompok sediaan *scaffold* ekstrak air *Aloe vera*

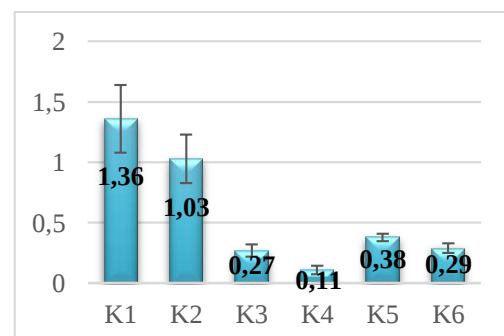
K2: Kelompok sediaan *scaffold* ekstrak etanol *Aloe vera*

K3: Kelompok sediaan *scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak air *Aloe vera* 1:1

K4: Kelompok sediaan *scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak etanol *Aloe vera* 1:1

K5: Kelompok sediaan *scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak air *Aloe vera* 1:2

K6: Kelompok sediaan *scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak etanol *Aloe vera* 1:2



Gambar 1. Rerata dan standar deviasi *compressive strength scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak *Aloe vera* dengan pelarut air dan etanol dalam satuan MPa.

Berdasarkan Tabel 1. dan gambar Gambar 1, diketahui bahwa rerata *compressive strength scaffold* yang tertinggi terdapat dalam K1 dan terendah terdapat dalam K4.

Tabel 2. Hasil uji normalitas (*Shapiro-Wilk*)

Uji Normalitas	
Kelompok	Shapiro-Wilk Sig.
K1	0.210*
K2	0.678*
K3	0.852*
K4	0.768*
K5	0.749*
K6	0.190*

Keterangan: * = $p > 0,05$ (data normal)

Berdasarkan Tabel 2. hasil uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data terdistribusi normal ($p > 0,05$), sehingga akan dilanjutkan dengan uji homogenitas.

Tabel 3. Hasil uji *Levene statistic compressive strength scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak *Aloe vera* dengan pelarut air dan etanol

Uji Homogenitas	
<i>compressive strength Levene Statistic</i>	Sig.
8.491	0.000*

Keterangan: * = $p < 0,05$ (data tidak homogen)

Berdasarkan hasil uji *Levene statistic* menunjukkan hasil $p < 0,05$, sehingga disimpulkan bahwa data memiliki variansi tidak homogeny. Maka akan dilanjutkan dengan uji hipotesis *One Way ANOVA Brown-Forsythe*.

Tabel 4. Hasil Uji *One Way ANOVA Brown-Forsythe compressive strength scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak *Aloe vera* dengan pelarut air dan etanol

One Way ANOVA Brown-Forsythe	
Variabel	Sig.
<i>Compressive strength</i>	0.000*

Keterangan: * = $p < 0,05$ (ada perbedaan signifikan)

Berdasarkan uji *One Way ANOVA Brown-Forsythe* menunjukkan hasil $p = 0.000$, oleh karena nilai $p < 0.05$ sehingga disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna (signifikan) pada setiap kelompok perlakuan.

Tabel 5. Hasil *Games-Howell compressive strength scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak *Aloe vera* dengan pelarut air dan etanol

KELO MPOK	K1	K2	K3	K4	K5	K6
K1		0.272	0.001*	0.001*	0.001*	0.001*
K2			0.001*	0.001*	0.001*	0.001*
K3				0.001*	0.001*	0.001*
K4					0.001*	0.001*
K5						0.001*
K6						

Keterangan: * = $p < 0,05$ (ada perbedaan signifikan)

Berdasarkan Tabel 5. menunjukkan bahwa terdapat perbedaan *compressive strength* pada semua kelompok kecuali pada K1&K2 serta K3&K6.

PEMBAHASAN

Pada hasil penelitian *compressive strength* antara *scaffold* ekstrak air *Aloe vera* dan *scaffold* ekstrak etanol *Aloe vera* tidak terdapat perbedaan yang signifikan dikarenakan kedua kelompok tersebut tidak dikombinasikan dengan bahan lain. Namun, dari hasil rata-rata diketahui bahwa *scaffold* ekstrak air *Aloe vera* memiliki *compressive strength* yang lebih besar daripada *scaffold* ekstrak etanol *Aloe vera*.

Selain itu, pada *scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak air *Aloe vera* 1:1 dengan *scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak etanol *Aloe vera*

1:1 menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ditunjukkan dengan rerata *compressive strength scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak air *Aloe vera* 1:1 yang lebih besar. Hal ini dikarenakan sifat mekanik dipengaruhi oleh suhu, ukuran sampel, ukuran partikel, teknik pembuatan *scaffold*, tingkat porositas, dan jenis sampel.²⁰

Pada penelitian pendahuluan uji partikel, diketahui bahwa ukuran partikel ekstrak air *Aloe vera* lebih kecil daripada ukuran partikel ekstrak etanol *Aloe vera*. Ukuran partikel ekstrak air *Aloe vera* yang kecil menyebabkan sifat mekanik menjadi lebih besar dikarenakan partikel akan menjadi lebih rapat.²¹ Semakin kecil ukuran partikel maka akan menyebabkan sediaan gel semakin cepat larut.²² Partikel kecil yang mudah larut menyebabkan sediaan gel menjadi homogen.²³ Dari hasil uji viskositas, menunjukkan *scaffold* ekstrak air *Aloe vera* memiliki viskositas yang rendah. Viskositas yang rendah menunjukkan ukuran partikel yang kecil dan rapat.²⁴ Sehingga, *scaffold* ekstrak air *Aloe vera* akan memiliki *compressive strength* yang lebih besar daripada *scaffold* ekstrak etanol *Aloe vera*. Hal ini juga terlihat pada kelompok dengan penambahan kitosan ataupun penambahan ekstrak *Aloe vera* dengan perbandingan 1:1 ataupun 1:2.

Pada *scaffold* ekstrak air *Aloe vera* dibandingkan dengan *scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak air *Aloe vera* 1:1, didapatkan perbedaan yang signifikan yang menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok. Pada kedua kelompok ini sama-sama menggunakan ekstrak air *Aloe vera*, namun bedanya pada penambahan kitosan. Kitosan dapat menurunkan sifat mekanik karena

sifatnya yang sangat rapuh dan kaku sehingga kitosan tidak digunakan dalam dosis tunggal sebagai pendukung dalam *tissue engineering*.²⁵

Besar *compressive strength* berbanding terbalik dengan ukuran pori dimana ukuran pori *scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak air *Aloe vera* 1:1 lebih tinggi daripada *scaffold* ekstrak air *Aloe vera*. Sehingga *compressive strength* pada *scaffold* kombinasi kitosan dan ekstrak air *Aloe vera* 1:1 lebih rendah daripada *scaffold* ekstrak air *Aloe vera*. Penambahan kitosan pada *scaffold* ekstrak air dan etanol baik dengan perbandingan 1:1 ataupun 1:2 akan mengakibatkan penurunan *compressive strength*.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini terdapat perbedaan *compressive strength scaffold* kombinasi kitosan dengan ekstrak etanol dan air *Aloe vera* dengan *compressive strength* tertinggi pada *scaffold* ekstrak air *Aloe vera*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aufan MR, Daulay AH, Indriani D, Nuruddin A, B. S. Purwasasmita BS. 2012. Sintesis Scaffold Alginat-Kitosan-Karbonat Apatit sebagai Bone Graft Menggunakan Metode Freeze Drying. Jurnal Biofisika. 2012;8(1): 24-16.
2. Swain SK, Bhattacharyya S, Sarkar D. Fabrication of Porous Hydroxyapatite Scaffold Via Polyethylene Glycol-Polyvinyl Alcohol Hydrogel State. Materials Research Bulletin. 2015. 64: 261-257.
3. Rodrigues CVM. Characterization of Bovine Collagen-Hydroxyapatite Composite Scaffold for Bone Tissue Engineering. Biomaterials. 2003;24(27): 4997-4987.
4. Shaik M & Subramanyam G. Stem Cell Scaffolds for Tissue Engineering. Juniper Publisher.2017;9(1):4-1.

5. Jagger DC, Harrison A. Denture Cleansing the Best Approach. *Br Dent J.* 1995;178: 413-7.
6. O'Brien FJ. Biomaterials & Scaffolds for Tissue Engineering. *Materials Today.* 2011;14(3):95-88.
7. Rahman S, Carter P, Bhattarai N. Aloe vera for Tissue Engineering Applications. *Journal of Functional Biomaterials.* 2017;8(1).
8. Xia W, Liu W, Cui L, Liu Y, Zhong W, Liu D, Wu J, Chua K, Cao Y. Tissue Engineering of Cartilage with the Use of Chitosan-Gelatin Complex Scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B: Applied Biomaterials.* 2004; 71(2):380-373.
9. Suh FJK, Matthew HWT. Applications of Chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: A review. *Biomaterials.* 2000; 21(24): 2598-2589.
10. Surjushe A, Vasani R, Saple DG. 2008. Aloe vera: A short review. *Indian Journal Dermato.* 2008; 53(4): 166-163.
11. Suganya S, Venugopal J, Ramakrishna S, Lakshmi BS, Dev VR, Giri. Aloe vera/Silk Fibroin/Hydroxyapatite Incorporated Electrospun Nanofibrous Scaffold for Enhanced Osteogenesis. *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering.* 2014;4(1):19-9.
12. Cole L & Heard C. Skin Permeation Enhancement Potential of Aloe vera and a Proposed Mechanism of Action Based Upon Size Exclusion and Pull Effect. *International Journal Pharmaceutics.* 2007; 333 (6):10.
13. Rahmawati LA. Potensi Kombinasi Ekstrak Air dari Curcuma mangga Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antifungi *Candida albicans* Secara In-vitro. Skripsi. Surabaya: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim; 2015. p. 29.
14. Carvalho RM, Mendonca JS, Santiago SL, Silveria RR, Garcia FC, Tay FR. Effect of HEMA/Solvent Combination Bond Strength to Dentin. *Journal Dental Research.* 2003;82(8):601-597.
15. Utomo S. Penggunaan Scaffold Kombinasi Kitosan, Aloe vera, dan Hidroksiapatit terhadap Jumlah Sel Osteoblas pada Penyembuhan Pencabutan Gigi Cavia Cobaya. Skripsi. Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah; 2018. p.29, 48.
16. Silva SS, Caridade SG, Mano JF, Reis RL. Effect of Crosslinking in Chitosan/Aloe vera Based Membranes for Biomedical Applications. *Carbohydrate Polymers.* 2013;98(1): 588-581.
17. Amalia F. Korelasi Antara Panjang Tulang Humerus dengan Tinggi Badan Pada Pria Dewasa Suku Lampung dan Suku Jawa di Desa Sukabumi Kecamatan Talang Padang Kabupaten Tanggamus. Karya Tulis Akhir. Lampung: Universitas Lampung; 2015. p. 9-10.
18. Chen G, Li W, Zhao B, Sun K. A Novel Biphasic Bone Scaffold: Beta Calcium Phosphate & Amorphous Calcium Polyphosphate. *Journal of the American Ceramic Society.* 2009;92(4): 948-945.
19. Poinern GEJ, Brundavanam RK, Fawcett D. Nanometre Scale Hydroxyapatite Ceramics for Bone Tissue Engineering. *American Journal of Biomedical Engineering.* 2013; 3(6): 168-148.
20. Sudibyo. Metodologi Penelitian Aplikasi Penelitian Bidang Kesehatan. Surabaya: Unesa University Press: 2009. p. 19-20.
21. Wang Y, Wang K, Li X, We Q, Chai W, Wang S & Che Y. 3D Fabrication and Characterization of Phosphoric Acid Scaffold with a HA/ β -TCP Weight Ratio of 60:40 for Bone Tissue Engineering Applications. *Journal Plos.* 2017; 12(4):7.
22. Husseinsyah S & Mostapha M. The Effect of Filler Content on Properties of Coconut Shell Filled Polyester Composites. *Malaysian Polymer Journal.* 2011; 6(1):97-87.
23. Sinala S. Farmasi fisik. Bahan Ajar Cetak Farmasi. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2016. p.45.
24. Lay A. Formulasi Sediaan Gel Kombinasi Kitosan yang Memiliki Berat Molekul Tinggi dan Rendah dengan Ekstrak Gel Lidah Buaya (Aloe vera) Sesuai Kriteria Aplikasi di Rongga Mulut (Penelitian Observasional Analitik). Skripsi. Sjurabaya: Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah; 2016. p. 62-64.
25. Muhandri T. Pengaruh Ukuran Partikel, Kadar Padatan, NaCl Dan Na₂co₃ Terhadap Sifat Amilografi Tepung Dan Pati Jagung [The Effect of Particle Size, Solid Content, NaCl and Na₂CO₃ on The Amilographic Characteristics of Corn Flour and Corn Starch. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.* 2017;18(2): 117-109.
26. Salim S, Rostiny, Mefina K. Efek Kombinasi Spirulina Kitosan untuk Preservasi Soket terhadap Osteoblas, Osteoklas, dan Kepadatan Kolagen. *Dentika Dental Journal.* 2015; 18(3): 231-225.