

Fabrikasi *Scaffolds* Kitosan-Gelatin Dengan Variasi Konsentrasi Gelatin Dan Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle L.*) Untuk Pengobatan Defek Tulang Akibat Tuberkulosis

1st Royyan Nomiashkhaf Sudiono

Fakultas Teknik Elektro

Universitas Telkom

Purwokerto, Indonesia

nomiashkhaf@student.telkomuniversity.ac.id

2nd Adanti Wido Paramadini

Fakultas Teknik Elektro

Universitas Telkom

Purwokerto, Indonesia

adanti@telkomuniversity.ac.id

3rd Faizah

Fakultas Rekayasa Industri

Universitas Telkom

Purwokerto, Indonesia

faizah@telkomuniversity.ac.id

Abstrak — Tuberkulosis tulang merupakan tantangan medis serius karena menyebabkan defek pada jaringan tulang, sehingga memerlukan strategi regeneratif yang efektif. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode fabrikasi *scaffolds* kitosan-gelatin dengan variasi konsentrasi gelatin tertentu dan penambahan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*). Evaluasi dilakukan untuk menentukan konsentrasi gelatin terbaik dalam *scaffolds* kitosan-gelatin dengan ekstrak daun sirih guna mendukung regenerasi jaringan tulang. Karakterisasi *scaffolds* meliputi analisis sifat fisikokimia untuk menilai kinerjanya dalam aplikasi medis. Berdasarkan penelitian terdahulu, kombinasi kitosan-gelatin telah menunjukkan potensi besar dalam mendukung pertumbuhan dan regenerasi sel tulang karena sifat biokompatibilitas dan bioaktifnya. Kitosan dikenal dengan sifat antimikrobanya, sementara gelatin meniru matriks ekstraseluler alami yang mendukung proliferasi dan diferensiasi sel. Penambahan ekstrak daun sirih mampu meningkatkan sifat antimikroba dan anti-inflamasi *scaffolds*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi gelatin 4% merupakan yang terbaik dalam hal sifat fisik, mekanik, dan *swelling*, sementara konsentrasi 8% memiliki efektivitas antibakteri tertinggi terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Temuan ini menunjukkan bahwa *scaffolds* kitosan-gelatin dengan ekstrak daun sirih memiliki potensi dalam pengobatan defek tulang akibat tuberkulosis, meskipun diperlukan optimalisasi lebih lanjut untuk keseimbangan antara stabilitas mekanis dan aktivitas antibakteri.

Kata kunci— Ekstrak daun sirih, regenerasi tulang, *scaffolds* kitosan-gelatin, tuberkulosis tulang.

I. PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*, dengan paru-paru sebagai organ yang paling sering terinfeksi. Namun, TB juga dapat menyerang tulang, menyebabkan defek yang memerlukan strategi regeneratif efektif. Rekayasa jaringan dengan *scaffolds* berbasis biomaterial menjadi solusi potensial dalam mempercepat proses penyembuhan defek tulang akibat TB.

Scaffolds kitosan-gelatin telah banyak diteliti karena sifat biokompatibilitas dan bioaktifnya. Kitosan memiliki sifat osteokonduktif, biodegradabilitas yang baik, serta aktivitas antimikroba, sementara gelatin menyediakan

lingkungan yang mendukung adhesi dan proliferasi sel. Namun, stabilitas mekanik dan efektivitas biologisnya masih perlu ditingkatkan. Oleh karena itu, penelitian ini menambahkan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*), yang kaya akan senyawa fenolik dan flavonoid dengan sifat antiinflamasi, dan antibakteri.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh variasi konsentrasi gelatin terhadap sifat fisik, kimia, dan biologis *scaffolds* kitosan-gelatin-ekstrak daun sirih. Parameter utama yang diuji meliputi karakterisasi struktur dengan *SEM*, analisis gugus fungsi dengan *FTIR*, uji *swelling*, uji degradasi, serta uji antibakteri. Hasil penelitian diharapkan dapat menentukan formulasi terbaik yang mendukung regenerasi tulang akibat TB dan menjadi solusi alternatif dalam terapi defek tulang.

II. KAJIAN TEORI

A. Tuberkulosis Tulang

Pada tahun 1882, Robert Koch mengidentifikasi basil tuberkel, yang juga dikenal sebagai *Mycobacterium tuberculosis*, sebagai agen etiologi tuberkulosis (TB). Sejak penemuannya, epidemi TB tampaknya tidak mereda dan menyebar ke seluruh penjuru dunia. TB adalah penyakit yang sangat menular melalui udara dan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Meskipun penyakit ini biasanya menyerang paru-paru (disebut TB paru), penyakit ini juga dapat menyebar ke bagian tubuh lain (dikenal sebagai TB ekstraparu).

B. *Scaffolds*

Scaffolds adalah komponen tipe *mesh 3-D* yang terbuat dari varian tipe material biokompatibel, bioaktif, dan biodegradable. Tujuan utama dari *scaffolds* adalah untuk meniru struktur dan fungsi matriks ekstraseluler (ECM) tulang asli yang menyediakan lingkungan untuk peningkatan sifat proliferasi, diferensiasi dan adhesi yang menghasilkan perbaikan sifat fisik tulang yang cacat.

C. *Scaffolds* Kitosan-Gelatin

Kitosan (polisakarida alami) merupakan turunan dari kitin [poli (N-asetil-1, 4- β -D-glukopiranosamin)], yang digunakan

dalam regenerasi jaringan karena sifat biokompatibilitas, biodegradasi, antimikroba, dan imunogeniknya. Gelatin berasal dari kolagen alami melalui hidrolisis ini adalah biomaterial yang tepat karena biaya dan imunogenisitasnya rendah. Gelatin memiliki kemampuan biodegradasi yang baik, kompatibilitas dengan jaringan hidup, adhesi sel dan sifat proliferasi. Gelatin digabungkan dengan kitosan untuk meningkatkan aktivitas biologisnya. Kehadiran zat *Arg-Gly-Asp* (RGD) dalam gelatin merangsang adhesi sel, imigrasi dan membentuk kompleks polielektrolit.

Scaffolds kitosan-gelatin memiliki sifat komparatif dari porositas tinggi, distribusi ukuran pori optimal dan kepadatan rendah dengan sifat mekanik tarik yang baik. Kombinasi gelatin dengan kitosan meningkatkan sifat mekanik dan kinetika biodegradasi *scaffolds*, membentuk komposit *amorf* yang menonjol. *Scaffolds* kitosan-gelatin menunjukkan keseragaman porositas. Kekuatan tarik yang lebih tinggi diamati pada *scaffolds* yang dibuat dengan kitosan-gelatin karena kemungkinan pembentukan ikatan hidrogen yang tahan lama selama persiapan sampel. Kapasitas adsorpsi air sampel kitosan-gelatin juga lebih tinggi. *Scaffolds* kitosan-gelatin dapat digunakan sebagai bahan yang ditingkatkan untuk rekayasa jaringan.

D. *Scaffolds* Kitosan-Gelatin

Daun sirih (*Piper betle* L.) memiliki kandungan senyawa kimia misalnya tanin, flavonoid (kuersetin), *eugenol*, hidroksikavikol, dan kavibetol yang juga sebagai antibakteri, antijamur, antioksidan, antidiabetes, dan antikanker. Secara *in vivo* ekstrak daun sirih berpengaruh terhadap penyembuhan luka pada mencit. Pemberian ekstrak daun sirih pada mencit yang mengalami luka akut dapat mempercepat fase inflamasi, meningkatkan *neo epitelisasi* dan pembentukan kolagen baru sehingga mempercepat penyembuhan luka akut.

III. METODE

A. Pemilihan Gelatin dalam Fabrikasi *Scaffolds*

Gelatin yang digunakan berasal dari hewan, khususnya sapi. Gelatin hewan dipilih karena memiliki komposisi asam amino yang sangat mirip dengan kolagen yang ditemukan dalam tulang manusia. Dengan menggunakan gelatin, *scaffolds* yang dihasilkan diharapkan dapat lebih mudah berinteraksi dengan sel-sel tulang, memfasilitasi proses regenerasi dengan lebih alami dan efektif. Pada penelitian ini, jenis gelatin yang dipilih adalah Gelatin 104078 dari Merck. Gelatin ini dikenal memiliki kualitas tinggi dan kemurnian yang cocok untuk aplikasi biomedis.

B. Pemilihan Kitosan Dalam Fabrikasi *Scaffolds*

Kitosan yang digunakan dalam penelitian ini dipilih berdasarkan sumber, kualitas, dan kemurniannya. Kitosan berasal dari deasetilasi kitin, yang diperoleh dari cangkang *crustacea* seperti udang dan kepiting. Kitosan dipilih karena memiliki sifat biokompatibilitas dan biodegradabilitas yang sangat baik, serta sifat antimikroba yang dapat membantu mengurangi risiko infeksi pada area regenerasi tulang. Jenis kitosan yang digunakan adalah Kitosan 448869 dari Merck. Kitosan ini dipilih karena memiliki derajat deasetilasi yang tinggi (sekitar 85%), yang penting untuk mendukung interaksi yang optimal dengan sel-sel *osteoprogenitor* dan

memfasilitasi pembentukan tulang. Selain itu, kitosan ini memiliki viskositas yang sesuai untuk pembuatan *scaffolds*, memastikan stabilitas mekanik dan struktur yang diperlukan untuk regenerasi jaringan tulang.

C. Pemilihan Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle* L.)

Ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) diperoleh melalui metode maserasi, di mana daun segar dikeringkan, dirajang, lalu direndam dalam etanol 96% selama 5 hari dengan pengadukan berkala. *Filtrat* yang diperoleh disaring dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* atau *water bath* hingga menjadi ekstrak kental. Ekstrak ini disimpan dalam wadah steril untuk menjaga kemurniannya sebelum dicampurkan ke dalam *scaffolds* berbasis kitosan-gelatin. Penambahan ekstrak daun sirih diharapkan meningkatkan sifat antimikroba dan antiinflamasi *scaffolds*, mendukung regenerasi tulang, serta mempercepat penyembuhan.

D. Penggabungan Gelatin dan Kitosan dengan Jumlah

Konsentrasi Gelatin yang Divariasikan

Proses fabrikasi *scaffolds* ini didasarkan pada modifikasi dari protokol yang telah ada, yang melibatkan larutan 2% w/v kitosan dalam asam asetat 1% v/v dan gelatin dalam air *ultrapure demineralized* pada suhu 50°C. Pada langkah pertama, larutan kitosan disiapkan dengan melarutkan kitosan berkonsentrasi 2% w/v dalam asam asetat 1% v/v. Larutan ini kemudian diaduk pada suhu 50°C hingga kitosan sepenuhnya larut. Sementara itu, gelatin dengan variasi konsentrasi (2%, 4%, 6%, dan 8% w/v) dilarutkan secara terpisah dalam air *ultrapure demineralized* pada suhu 50°C, dan diaduk hingga gelatin benar-benar larut. Setelah kedua larutan siap, larutan kitosan dan gelatin dicampur dengan rasio kitosan/gelatin yang sesuai untuk setiap variasi konsentrasi gelatin. Campuran ini diaduk selama 2 jam pada suhu 50°C untuk memastikan homogenitas dan pembentukan jaringan yang seragam.

E. Penggabungan Gelatin dan Kitosan dengan Variasi

Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle* L.)

Proses penggabungan dimulai dengan mencampurkan larutan kitosan-gelatin dengan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dalam empat variasi konsentrasi: 1:0,1 v/v, 1:0,2 v/v, dan 1:0,3 v/v, dan 1:0,4 v/v. Hal ini disesuaikan dengan variasi konsentrasi gelatin (2%, 4%, 6%, dan 8% w/v). Pada setiap variasi, ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) berfungsi sebagai senyawa bioaktif yang diintegrasikan ke dalam matriks *scaffolds*. Penambahan ekstrak daun sirih diharapkan tidak hanya meningkatkan sifat mekanik *scaffolds*, tetapi juga memberikan efek antimikroba yang signifikan, mengurangi risiko infeksi, dan mempromosikan lingkungan yang kondusif untuk penyembuhan dan regenerasi tulang.

F. Pencetakan *Scaffolds*

Pencetakan *scaffolds* dilakukan dengan menggunakan metode *freeze-dry*, karena larutan yang terbuat dari gelatin bersifat kental dan memiliki viskositas tinggi. Proses ini diawali dengan pencetakan larutan *scaffolds* yang telah homogen ke dalam cetakan khusus. Selanjutnya, larutan dicetak pada suhu -30 °C. Pembekuan pada suhu rendah ini sangat penting untuk membentuk struktur awal dari *scaffolds* yang diinginkan, dengan memastikan terbentuknya pori-pori besar yang esensial untuk aplikasi regenerasi tulang.

G. Uji Fenol dan Flavonoid

Uji fenol dan flavonoid pada ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) dilakukan untuk mengevaluasi kandungan senyawa fenolik. Proses dimulai dengan pembuatan ekstrak daun sirih menggunakan metode maserasi untuk mengekstrak senyawa yang tahan dan tidak tahan pemanasan. Daun sirih segar, mulai dari daun muda hingga tua, dicuci, dikeringkan, dirajang, dan ditimbang sebanyak 35 g. Daun yang sudah dipotong dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditambahkan metanol 87,5 ml, dan dimaserasi selama 2x24 jam pada suhu 27°C. Setelah itu, dilakukan filtrasi dan filtrat disimpan di lemari pendingin. Residu kemudian dimaserasi kembali dengan metanol selama 2x24 jam, disaring lagi, dan hasil filtrasi dipadatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C.

H. Uji Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

Uji FTIR akan membantu kita memverifikasi keberadaan komponen bahan utama dalam *scaffolds* serta potensi adanya interaksi kimia antar material. Analisis uji *FTIR scaffolds* kitosan-gelatin direkam menggunakan spektrometer optik *Nicolet 6700* di kisaran 400-4000 cm⁻¹. Data spektrum *FTIR* ini kemudian dianalisis untuk mengevaluasi keberhasilan karakteristik kimia dari *scaffolds*.

I. Uji Swelling

Swelling menggambarkan sejauh mana suatu material dapat menyerap cairan sebelum mencapai kondisi jenuh, yang berkaitan langsung dengan struktur pori dan tingkat hidrofilisitasnya. Pengujian ini sangat penting dalam pengembangan biomaterial, terutama *scaffolds* untuk regenerasi jaringan, karena kemampuan menyerap cairan akan mempengaruhi difusi nutrisi, adhesi sel, serta pertumbuhan dan proliferasi sel dalam *scaffolds*. Persentase penyerapan air dihitung menggunakan rumus berikut:

$$W = \frac{W\omega - W_0}{W_0} \quad (1)$$

Dimana W_0 adalah berat *scaffolds* kering, sedangkan $W\omega$ adalah berat *scaffolds* basah setelah 30 menit dalam PBS. Nilai yang diperoleh dinyatakan sebagai rata-rata $\pm$ standar error ($n = 5$).

J. Uji Degradasi

Metode umum dalam uji degradasi melibatkan perendaman *scaffolds* dalam medium seperti *buffer fosfat (PBS)*, enzim lisosomal, atau cairan tubuh simulasi (*SBF, Simulated Body Fluid*) pada suhu fisiologis (37°C) selama periode tertentu. Setelah perendaman, *scaffolds* dikeringkan dan ditimbang untuk menentukan laju degradasinya. Sampel ditempatkan dalam 10 ml PBS (*Phosphate-Buffered Saline*) pH 7.4 dan diinkubasi pada suhu 37 °C. Setiap 5 hingga 6 hari, sampel diambil dari medium, dikeringkan menggunakan metode *freeze-dry*, dan kehilangan beratnya diperiksa menggunakan rumus berikut:

$$D = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \quad (2)$$

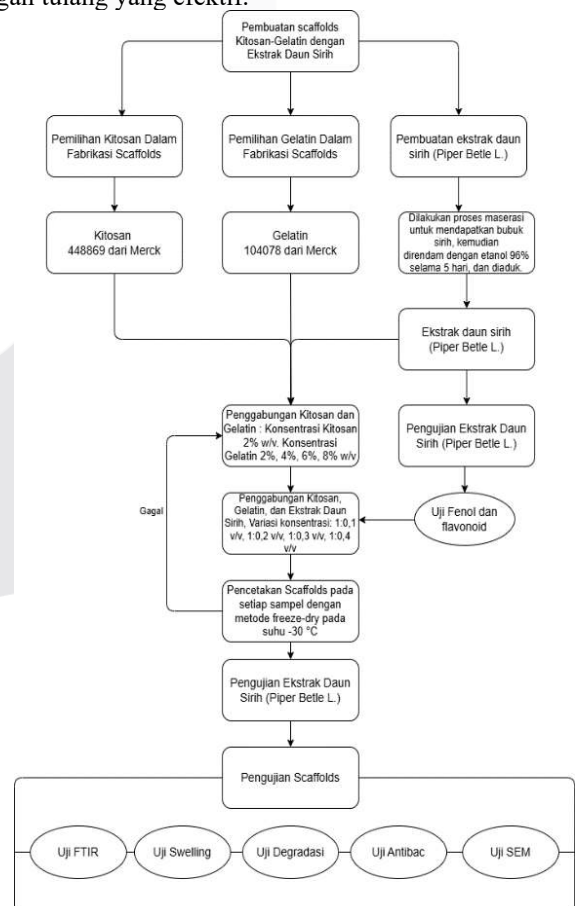
Dimana W_0 adalah berat *scaffolds* kering, sedangkan W_1 adalah berat *scaffolds* pada titik waktu yang berbeda setelah dikeringkan. Nilai yang diperoleh dinyatakan sebagai rata-rata $\pm$ standar error ($n = 5$).

K. Uji Antibakteri

Menggunakan metode *inhibit zone*, ekstrak daun sirih diharapkan mampu menunjukkan aktivitas antibakteri yang signifikan. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)* nanopartikel ZnO menunjukkan efektivitas tinggi terhadap bakteri gram-positif seperti *Staphylococcus aureus*, namun memerlukan konsentrasi lebih tinggi untuk menghambat bakteri gram-negatif seperti *Escherichia coli*. Dengan perbedaan morfologi dinding sel, efektivitas ZnO lebih tinggi pada bakteri gram-positif karena dinding sel peptidoglikannya yang lebih mudah ditembus. Hasil uji antibakteri ini diharapkan menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih pada *scaffolds* kitosan-gelatin efektif menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga dapat mendukung regenerasi tulang pada kasus tuberkulosis tulang.

L. Uji Scanning Electron Microscopy (SEM)

Uji *SEM* dilakukan untuk mengungkap struktur mikro dan morfologi *scaffolds* yang difabrikasi menggunakan kitosan-gelatin dan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) mengamati dengan detail tinggi bagaimana kitosan-gelatin dan ekstrak daun sirih terorganisir dalam skala mikro/nano. Uji *Scanning Electron Microscopy (SEM)* juga bertujuan untuk mengevaluasi struktur mikro, morfologi permukaan, porositas, ukuran pori, dan distribusi pori pada *scaffolds* untuk memastikan *scaffolds* memiliki karakteristik fisik yang sesuai untuk mendukung pertumbuhan dan regenerasi jaringan tulang yang efektif.



GAMBAR 1
(BLOK DIAGRAM METODE)

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini berhasil dilakukan dengan mengevaluasi variasi konsentrasi gelatin pada *scaffolds* berbahan kitosan-gelatin dengan penambahan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*), sehingga didapatkan hasil dari konsentrasi terbaik sebagai solusi terbaru dalam pengobatan defek tulang akibat tuberkulosis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi gelatin memiliki pengaruh signifikan terhadap sifat fisik, biologis, dan kimiawi *scaffolds*. Penambahan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) memberikan efek yang signifikan pada *scaffolds* kitosan-gelatin, khususnya dalam meningkatkan sifat antibakteri. Kandungan bioaktif dalam ekstrak daun sirih, seperti senyawa fenol dan flavonoid, berfungsi sebagai agen antimikroba alami yang efektif melawan bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Efek ini sangat penting dalam aplikasi medis, karena dapat membantu mencegah infeksi di area defek tulang selama proses regenerasi.



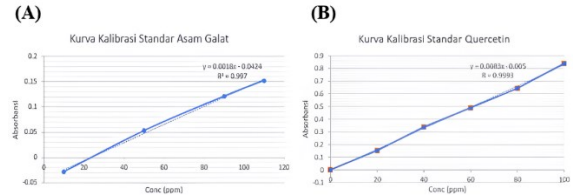
GAMBAR 2
(SCAFFOLDS VARIASI KONSENTRASI GELATIN 2%, 4%, 6%, 8%)

Variasi konsentrasi gelatin pada *scaffolds* berbahan kitosan-gelatin dengan penambahan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) adalah variasi konsentrasi 2%, 4%, 6%, dan 8% gelatin. Didapatkan hasil pada pengujian dengan konsentrasi terbaik yaitu 4%, tetapi pada beberapa tahap uji yang berbeda, variasi konsentrasi gelatin pada *scaffolds* berbahan kitosan-gelatin dengan penambahan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) juga memberikan hasil yang memiliki kelebihan serta kekurangan masing-masing. Melalui pengujian karakterisasi *scaffolds* yang dimulai dari uji fenol dan flavonoid pada ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*), uji *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR), uji swelling, uji degradasi, uji antibakteri terhadap bakteri gram-positif seperti *staphylococcus aureus* dan bakteri gram-negatif seperti *escherichia coli*, serta uji *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Secara keseluruhan berdasarkan kemampuan *scaffolds* untuk memastikan keseimbangan antara sifat mekanis, biologis, dan kimiawi, konsentrasi 4% memberikan hasil terbaik dalam menjaga kestabilan *scaffolds* selama proses pengujian swelling dan degradasi. Adapun hasil dari keseluruhan pengujian, dijabarkan pada hasil berikut.

A. Uji Fenol dan Flavonoid

Uji fenol dan flavonoid dilakukan untuk mengevaluasi kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak daun sirih (*Piper*

betle L.), yang digunakan sebagai komponen tambahan dalam *scaffolds* berbasis kitosan-gelatin.



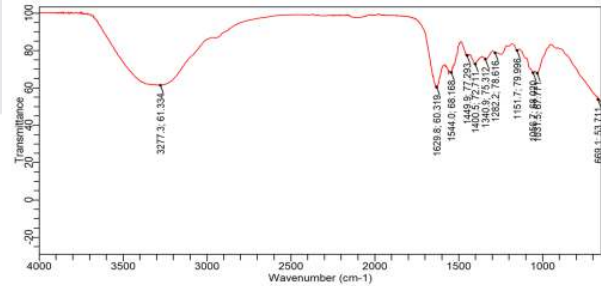
GAMBAR 3
(KURVA KALIBRASI STANDAR DALAM PENGUJIAN FENOL DAN FLAVONOID: (A). ASAM GALAT STANDAR FENOL; (B). QUERCETIN STANDAR FLAVONOID)

TABEL 1
(FENOL DAN FLAVONOID TOTAL EKSTRAK *PIPER BETLE L.*)

N o.	Absorbansi		Conc terukur (mg/l)		Conc akhir (mg/g)	
	fenol	flavo noid	fenol	flavo noid	fenol	flavo noid
1	0,172	0,141	111,6	17,60	59,555	36,49
2	0,189	0,144	120,1	17,96	64,275	37,71
Rata-rata					61,915	37,15

Hasil yang ditunjukkan pada Tabel 1 mengungkapkan bahwa rerata konsentrasi fenol sebesar 61,915 mg/g lebih tinggi dibandingkan rerata konsentrasi flavonoid sebesar 37,15 mg/g. Hal ini terjadi karena fenol memiliki stabilitas yang lebih tinggi dan ketahanan yang lebih baik terhadap kondisi ekstraksi yang keras, sehingga fenol lebih sedikit terdegradasi dibandingkan flavonoid. Kandungan fenol yang tinggi berkontribusi pada aktivitas antioksidan yang kuat, yang sangat penting untuk mengurangi stres oksidatif di sekitar area implantasi dan melindungi sel-sel sehat dari kerusakan oksidatif. Selain itu, aktivitas antioksidan ini juga mendukung percepatan regenerasi jaringan tulang, yang menjadi tujuan utama penelitian ini. Di sisi lain, flavonoid dalam konsentrasi 37,15 mg/g tetap signifikan meskipun lebih rendah dari fenol. Flavonoid berperan sebagai agen anti-inflamasi yang efektif, yang membantu mengurangi peradangan berlebihan di area implantasi.

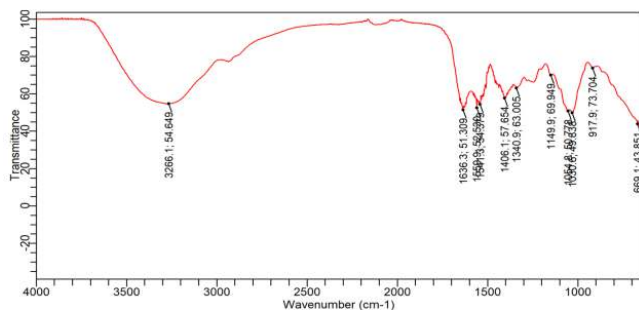
B. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)



GAMBAR 4
(SPEKTRA GELATIN 2% (W/V), KITOSAN 2% (W/V), EKSTRAK *PIPER BETLE L.* 9% (W/V))

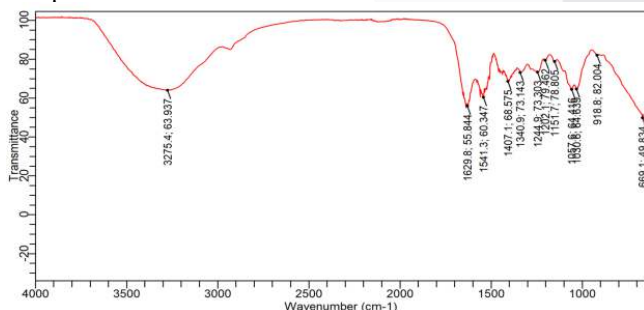
Spektrum FTIR untuk Sampel Gelatin 2% (w/v), Kitosan 2% (w/v), dan Ekstrak *Piper betle L.* 9% (w/v) menunjukkan puncak utama pada bilangan gelombang 3277.3 cm⁻¹, yang mengindikasikan keberadaan gugus O-H atau N-H. Puncak ini berasal dari regangan hidroksil atau amina yang terdapat

pada kitosan dan gelatin. Puncak lainnya pada 1630.8 cm^{-1} mengindikasikan keberadaan ikatan C=O, yang merupakan ciri khas dari gugus amida I pada gelatin. Gugus ini menunjukkan keberadaan struktur protein gelatin yang signifikan. Selain itu, puncak pada 1540.6 cm^{-1} mencerminkan gugus C-N atau N-H dari amida II, yang juga berasal dari gelatin. Gugus ini menunjukkan adanya ikatan peptida yang mendukung interaksi antara komponen penyusun. Puncak pada 1032.7 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-O, yang merepresentasikan gugus alkohol dari kitosan dan ekstrak daun sirih. Kombinasi puncak-puncak ini menunjukkan interaksi awal yang baik antara gelatin, kitosan, dan ekstrak daun sirih dalam membentuk *scaffolds* biomaterial.



GAMBAR 5
(SPEKTRA GELATIN 4% (W/V), KITOSAN 2% (W/V),
EKSTRAK *PIPER BETLE L.* 9% (W/V))

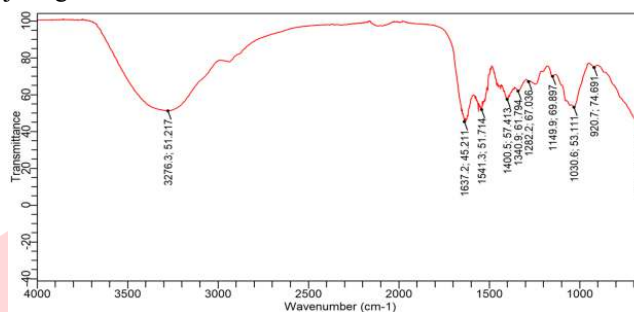
Pada spektrum FTIR Sampel Gelatin 4% (w/v), Kitosan 2% (w/v), dan Ekstrak *Piper betle L.* 9% (w/v), puncak utama teridentifikasi pada 3286.1 cm^{-1} , yang menunjukkan gugus O-H atau N-H. Peningkatan bilangan gelombang ini dibandingkan dengan Sampel Gelatin 2%, menunjukkan adanya perubahan dalam interaksi hidrogen antara gelatin, kitosan, dan ekstrak daun sirih. Puncak pada 1653.5 cm^{-1} yang merepresentasikan gugus C=O (amida I) menunjukkan penurunan intensitas dibandingkan dengan Sampel Gelatin 2%. Hal ini dapat menunjukkan modifikasi interaksi bahan akibat peningkatan konsentrasi gelatin. Variasi ini mungkin memengaruhi struktur dan ikatan kimia antar komponen penyusun *scaffolds*. Puncak-puncak lainnya yang relevan tetap menunjukkan pola serupa, menegaskan bahwa komponen utama masih mendominasi interaksi material.



GAMBAR 6
(SPEKTRA GELATIN 6% (W/V), KITOSAN 2% (W/V),
EKSTRAK *PIPER BETLE L.* 9% (W/V))

Spektrum FTIR untuk Sampel Gelatin 6% (w/v), Kitosan 2% (w/v), dan Ekstrak *Piper betle L.* 9% (w/v), menunjukkan puncak utama pada 3275.4 cm^{-1} , yang merepresentasikan gugus O-H atau N-H. Puncak ini menunjukkan stabilitas gugus hidroksil meskipun konsentrasi gelatin meningkat. Selain itu, puncak pada 1629.8 cm^{-1} yang merepresentasikan gugus C=O (amida I) menunjukkan intensitas yang lebih

tinggi dibandingkan dengan Sampel Gelatin 4%. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi gelatin memberikan kontribusi pada peningkatan densitas struktur protein dalam *scaffolds*. Puncak-puncak lainnya tetap mendukung keberadaan gugus amida II dan gugus alkohol, mencerminkan interaksi yang lebih kuat antara kitosan, gelatin, dan ekstrak daun sirih. Hasil ini menunjukkan bahwa konsentrasi gelatin yang lebih tinggi mulai memperkuat jaringan matriks biomaterial.



GAMBAR 7
(SPEKTRA GELATIN 8% (W/V), KITOSAN 2% (W/V),
EKSTRAK *PIPER BETLE L.* 9% (W/V))

Pada Sampel Gelatin 8% (w/v), Kitosan 2% (w/v), dan Ekstrak *Piper betle L.* 9% (w/v), puncak utama terlihat pada 3273.6 cm^{-1} , yang mengindikasikan keberadaan gugus O-H atau N-H. Penurunan bilangan gelombang dibandingkan dengan Sampel Gelatin 6%, menunjukkan adanya penguatan interaksi hidrogen, yang mungkin disebabkan oleh tingginya konsentrasi gelatin. Puncak pada 1637.2 cm^{-1} merepresentasikan gugus C=O (amida I) dan menunjukkan intensitas yang lebih tinggi, mencerminkan interaksi matriks yang lebih signifikan antara gelatin, kitosan, dan ekstrak daun sirih. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi gelatin yang lebih tinggi mendukung pembentukan struktur biomaterial yang lebih padat. Puncak lainnya tetap mendukung keberadaan gugus C-N dan C-O, menunjukkan bahwa *scaffolds* memiliki karakteristik fisikokimia yang stabil. Dengan konsentrasi gelatin tertinggi, interaksi antar komponen mencapai tingkat optimal, memberikan struktur *scaffolds* yang kuat dan seragam.

Secara keseluruhan, peningkatan konsentrasi gelatin dari 2% hingga 8% memengaruhi intensitas dan posisi puncak pada spektrum FTIR, terutama pada gugus O-H/N-H dan C=O (amida I). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi gelatin berperan penting dalam menentukan kekuatan mekanik dan stabilitas struktur *scaffolds*. Gugus fungsi yang teridentifikasi dari kitosan, gelatin, dan ekstrak daun sirih saling berinteraksi untuk membentuk *scaffolds* biomaterial yang potensial untuk aplikasi biomedis. Tumpang tindih puncak pada $3200\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$ mencerminkan interaksi hidrogen antar komponen, yang dapat menjadi fokus untuk analisis lebih lanjut.

C. Uji Swelling

TABEL 2
(HASIL UJI SWELLING)

No.	Variasi	Rata-rata
1.	Gelatin 2%	423%
2.	Gelatin 4%	642%

3.	Gelatin 6%	432%
4.	Gelatin 8%	446%

Kemampuan *scaffolds* menyerap cairan memengaruhi transportasi nutrisi, pertukaran gas, dan pengangkutan limbah dalam sistem biologis. Dalam penelitian ini, rasio *swelling* diuji pada berbagai konsentrasi gelatin, dengan hasil tertinggi pada gelatin 4% (642%), diikuti gelatin 2% (423%), 8% (446%), dan 6% (432%). Gelatin 4% memiliki rasio *swelling* tertinggi karena menghasilkan struktur pori optimal, memungkinkan cairan terserap maksimal. Sebaliknya, gelatin 2% memiliki struktur lebih lemah, sementara gelatin 6% dan 8% lebih padat, sehingga membatasi absorpsi cairan akibat *cross-linking* yang lebih kuat. Komposisi dan struktur *scaffolds* berperan penting dalam kemampuan *swelling*. Gelatin 4% memberikan keseimbangan terbaik antara porositas dan stabilitas, cocok untuk regenerasi jaringan lunak. Gelatin 2% lebih sesuai untuk aplikasi dengan kebutuhan stabilitas rendah, sedangkan gelatin 6% dan 8% lebih cocok untuk aplikasi yang membutuhkan stabilitas tinggi, seperti jaringan tulang.

D. Uji Degradasi

TABEL 3
(HASIL UJI DEGRADASI)

No.	Variasi	Rata-rata
1.	Gelatin 2%	76%
2.	Gelatin 4%	54%
3.	Gelatin 6%	63%
4.	Gelatin 8%	71%

Hasil uji menunjukkan bahwa *scaffolds* dengan gelatin 2% memiliki rasio degradasi tertinggi (76%), diikuti oleh gelatin 8% (71%), 6% (63%), dan 4% (54%). Pola ini tidak linier, menunjukkan bahwa konsentrasi gelatin memengaruhi interaksi struktur *scaffolds* dengan larutan PBS secara kompleks. Gelatin 2% memiliki porositas tinggi, memungkinkan cairan PBS lebih mudah menembus material dan mempercepat degradasi. Sebaliknya, gelatin 4% memiliki struktur stabil dengan porositas dan *cross-linking* seimbang, menghasilkan laju degradasi terendah. Gelatin 6% lebih rapat tetapi masih cukup permeabel, sedangkan gelatin 8% lebih padat tetapi rapuh, sehingga tetap mudah terdegradasi. Porositas berperan penting dalam degradasi, dengan gelatin 2% memiliki luas permukaan besar yang mempercepat degradasi, sementara gelatin 4% dan 6% lebih stabil. Gelatin 8%, meskipun kurang berpori, tetap rentan karena strukturnya rapuh. *Cross-linking* yang lebih kuat pada gelatin 4% dan 6% meningkatkan stabilitas terhadap degradasi. Gelatin 2% cocok untuk regenerasi jaringan cepat, sementara gelatin 4% dan 6% lebih sesuai untuk regenerasi jangka menengah. Gelatin 8% membutuhkan optimasi lebih lanjut untuk meningkatkan stabilitas mekanisnya, menjadikan pemilihan konsentrasi gelatin faktor kunci dalam aplikasi *scaffolds* regeneratif.

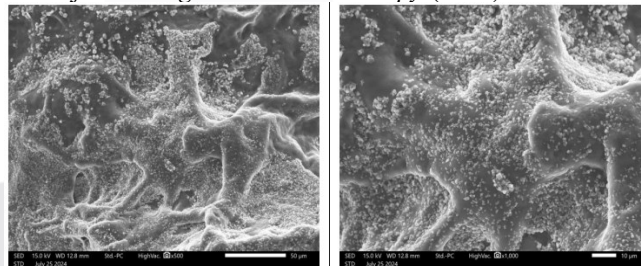
E. Uji Antibakteri

TABEL 4
(HASIL UJI ANTIBAKTERI)

No.	Variasi	Diameter Zona Hambat (Mm)	
		<i>E. Coli</i>	<i>S. Aureus</i>
1.	2%	0,7	0,83
2.	4%	0,41	0,54
3.	6%	1,11	1,01
4.	8%	1,66	1,66

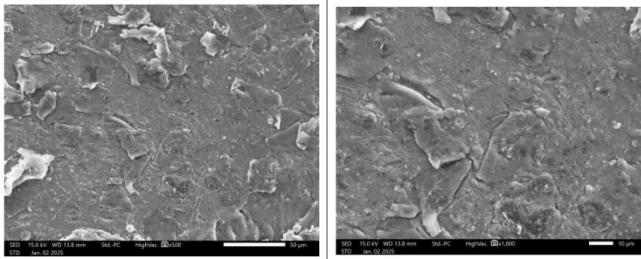
Tabel 4 menunjukkan bahwa gelatin 8% memiliki zona hambat terbesar terhadap *S. aureus* (1.66 mm) dan *E. coli* (1.29 mm), menandakan peningkatan konsentrasi gelatin mendukung pelepasan senyawa aktif dari ekstrak daun sirih. Senyawa fenol dan flavonoid dalam ekstrak ini mampu menembus dinding sel bakteri, meskipun bakteri Gram-negatif lebih resisten. Namun, meskipun gelatin 8% menghasilkan zona hambat tertinggi, konsentrasi ini tidak dianggap terbaik karena dapat menjadi sumber nutrisi bagi bakteri. Sebaliknya, gelatin 6% dinilai paling optimal, dengan zona hambat 1.01 mm (*S. aureus*) dan 1.11 mm (*E. coli*). Konsentrasi ini menjaga keseimbangan antara efektivitas antibakteri dan sifat mekanik *scaffolds* tanpa mendukung pertumbuhan bakteri. Pada gelatin 2% dan 4%, zona hambat lebih kecil akibat pelepasan senyawa bioaktif yang kurang maksimal. Kontrol negatif menunjukkan bahwa aktivitas antimikroba juga berasal dari kitosan. Dengan demikian, gelatin 6% menjadi pilihan terbaik untuk efektivitas antibakteri yang optimal tanpa risiko nutrisi berlebih bagi bakteri.

F. Uji Scanning Electron Microscopy (SEM)



GAMBAR 8
(HASIL PENGAMATAN UJI SEM PADA KONSENTRASI GELATIN 2%)

Pada konsentrasi 2%, hasil pengamatan menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun sirih mulai memberikan dampak positif terhadap struktur *scaffolds*. Ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) berkontribusi pada peningkatan aktivitas antibakteri, menjadikannya lebih efektif dibandingkan *scaffolds* tanpa penambahan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*). Hal ini mengindikasikan bahwa pada konsentrasi rendah, ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) mampu membantu meningkatkan kemampuan *scaffolds* untuk menghambat pertumbuhan bakteri tanpa terlalu memengaruhi struktur fisik.



GAMBAR 9

(HASIL PENGAMATAN UJI SEM PADA KONSENTRASI GELATIN 8%)

Pada konsentrasi 8%, *scaffolds* menunjukkan efektivitas antibakteri yang baik, peningkatan kandungan gelatin memberikan pengaruh signifikan terhadap struktur *scaffolds*. Kandungan gelatin yang lebih tinggi menyebabkan penetrasi pada struktur *scaffolds*, yang dapat memengaruhi kestabilan mekanis dan mengurangi sifat porositas yang diperlukan untuk mendukung regenerasi jaringan tulang. Hal ini menandakan bahwa konsentrasi tinggi tidak selalu memberikan hasil optimal, terutama jika keseimbangan antara aktivitas antibakteri dan sifat mekanis terganggu. Konsentrasi 4% dan 6%, menunjukkan hasil yang paling efektif secara keseluruhan. Pada konsentrasi ini, terdapat keseimbangan antara efektivitas antibakteri dan sifat mekanik *scaffolds*. Struktur yang dihasilkan tidak hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan baik, tetapi juga mempertahankan kestabilan mekanis dan porositas yang diperlukan untuk regenerasi jaringan tulang. Pengamatan morfologi SEM menunjukkan pori-pori yang saling terhubung dengan pori-pori *scaffolds* yang heterogen (bervariasi) antara 10-100 μm mendukung pertumbuhan sel tulang dengan meningkatkan difusi nutrisi, adhesi sel, dan meningkatkan viabilitas sel *osteoblast*.

V. KESIMPULAN

Hasil uji menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun sirih meningkatkan sifat antibakteri *scaffolds*, dengan gelatin 8% menghasilkan zona hambat terbesar terhadap *S. aureus* dan *E. coli*, namun gelatin 6% dianggap lebih optimal karena tetap efektif tanpa memberikan nutrisi tambahan bagi bakteri. Selain itu, variasi konsentrasi gelatin memengaruhi sifat mekanik dan biodegradabilitas *scaffolds*, di mana gelatin 4% menunjukkan keseimbangan terbaik dengan rasio degradasi terendah (54%), memastikan stabilitas mekanis optimal untuk regenerasi jaringan tulang jangka menengah. Gelatin 2% memiliki laju degradasi tertinggi (76%) tetapi stabilitas mekanis rendah, sedangkan gelatin 6% dan 8% menghasilkan struktur lebih padat dengan laju degradasi masing-masing 63% dan 71%, namun gelatin 8% berisiko lebih rapuh. Oleh karena itu, gelatin 4% dinilai sebagai konsentrasi optimal untuk pengobatan defek tulang akibat tuberkulosis, karena memberikan keseimbangan terbaik antara stabilitas mekanis dan biodegradabilitas.

REFERENSI

- [1] K. Mar'iyah And Z. Zulkarnain, "Patofisiologi Penyakit Infeksi Tuberkulosis," *Pros. Semin. Nas. Biol.*, Vol. 7, No. 1, Art. No. 1, Nov. 2021, Doi: 10.24252/Psb.V7i1.23169.
- [2] P. U. Haerunnisya, E. P. Wiriansya, I. M. Musa, K. E. Yanti, And F. Irsandy, "Karakteristik Penderita Penyakit Tuberkulosis Ekstra Paru Di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Dan Rs Ibnu Sina Makassar Tahun 2018-2022," *Prepotif J. Kesehat. Masy.*, Vol. 8, No. 1, Pp. 234–243, Feb. 2024, Doi: 10.31004/Prepotif.V8i1.25539.
- [3] Y. Kim *Et Al.*, "Chitosan-Based Biomaterials For Tissue Regeneration," *Pharmaceutics*, Vol. 15, No. 3, P. 807, Mar. 2023, Doi: 10.3390/Pharmaceutics15030807.
- [4] D. Rianti *Et Al.*, "The Characteristics, Swelling Ratio And Water Content Percentage Of Chitosan-Gelatin/Limestone-Based Carbonate Hydroxyapatite Composite Scaffold," *Int. J. Integr. Eng.*, Vol. 14, No. 2, Art. No. 2, Mar. 2022.
- [5] D. Rianti *Et Al.*, "The Compressive Strength And Static Biodegradation Rate Of Chitosan-Gelatin Limestone-Based Carbonate Hydroxyapatite Composite Scaffold," *Dent. J.*, Vol. 56, No. 3, Art. No. 3, Jun. 2023, Doi: 10.20473/J.Djmg.V56.I3.P160-165.
- [6] N. Desai *Et Al.*, "Chitosan: A Potential Biopolymer In Drug Delivery And Biomedical Applications," *Pharmaceutics*, Vol. 15, No. 4, P. 1313, Apr. 2023, Doi: 10.3390/Pharmaceutics15041313.
- [7] S. M. Mawazi, M. Kumar, N. Ahmad, Y. Ge, And S. Mahmood, "Recent Applications Of Chitosan And Its Derivatives In Antibacterial, Anticancer, Wound Healing, And Tissue Engineering Fields," *Polymers*, Vol. 16, No. 10, P. 1351, May 2024, Doi: 10.3390/Polym16101351.
- [8] X. Wang *Et Al.*, "Engineered Gelatin-Based Conductive Hydrogels For Flexible Wearable Electronic Devices: Fundamentals And Recent Advances," *J. Sci. Adv. Mater. Devices*, Vol. 7, No. 3, P. 100451, Sep. 2022, Doi: 10.1016/J.Jsamd.2022.100451.
- [9] L. T. Lien, N. T. Tho, D. M. Ha, P. L. Hang, P. T. Nghia, And N. D. Thang, "Influence Of Phytochemicals In Piper Betle Linn Leaf Extract On Wound Healing," *Burns Trauma*, Vol. 3, P. 23, Dec. 2015, Doi: 10.1186/S41038-015-0023-7.
- [10] C. Lestari, E. Darwin, D. Putra, N. Suharti, And B. Gani, "The Role Of Plant Extracts In The Repair Of Rattus Norvegicus Mandibular Alveolar Bone In A Periodontitis Model," *Rasayan J. Chem.*, Vol. 16, Pp. 1342–1350, Jan. 2023, Doi: 10.31788/Rjc.2023.1638159.
- [11] N. N. Soeroso, F. R. Ananda, H. Rahmadhany, And D. D. Putra, "Tuberculosis Of The Knee: A Pitfalls In Clinical Settings (A Case Report And Literature Review)," *Int. J. Surg. Case Rep.*, Vol. 71, Pp. 14–18, Jan. 2020, Doi: 10.1016/J.Ijscr.2020.04.090.
- [12] M. Montana, V. Montero, O. Khoumeri, And P. Vanelle, "Quinoxaline Moiety: A Potential Scaffold

- Against Mycobacterium Tuberculosis,” *Molecules*, Vol. 26, No. 16, Art. No. 16, Jan. 2021, Doi: 10.3390/Molecules26164742.
- [13] K. Guillén-Carvajal, B. Valdez-Salas, E. Beltrán-Partida, J. Salomón-Carlos, And N. Cheng, “Chitosan, Gelatin, And Collagen Hydrogels For Bone Regeneration,” *Polymers*, Vol. 15, No. 13, P. 2762, Jun. 2023, Doi: 10.3390/Polym15132762.
- [14] F. Kadi, G. Dini, S. A. Poursamar, And F. Ejeian, “Fabrication And Characterization Of 3d-Printed Composite Scaffolds Of Coral-Derived Hydroxyapatite Nanoparticles/Polycaprolactone/Gelatin Carrying Doxorubicin For Bone Tissue Engineering,” *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, Vol. 35, No. 1, P. 7, Jan. 2024, Doi: 10.1007/S10856-024-06779-X.
- [15] I. Barberis, N. L. Bragazzi, L. Galluzzo, And M. Martini, “The History Of Tuberculosis: From The First Historical Records To The Isolation Of Koch’s Bacillus,” *J. Prev. Med. Hyg.*, Vol. 58, No. 1, Pp. E9–E12, Mar. 2017.
- [16] S. S. R. Alsayed And H. Gunosewoyo, “Tuberculosis: Pathogenesis, Current Treatment Regimens And New Drug Targets,” *Int. J. Mol. Sci.*, Vol. 24, No. 6, P. 5202, Mar. 2023, Doi: 10.3390/Ijms24065202.
- [17] M. K. Leonard And H. M. Blumberg, “Musculoskeletal Tuberculosis,” *Microbiol. Spectr.*, Vol. 5, No. 2, P. 10.1128/Microbiolspec.Tnmi7-0046–2017, Apr. 2017, Doi: 10.1128/Microbiolspec.Tnmi7-0046-2017.
- [18] J. Tellez-Rodriguez, R. Lopez-Fernandez, R. Rodriguez-Jurado, H. N. Moreno-Sandoval, F. Martinez-Perez, And J. A. Gonzalez-Barrios, “Mycobacterium Tuberculosis As A Cause Of Mandibular Osteomyelitis In A Young Woman: A Case Report,” *J. Med. Case Reports*, Vol. 10, No. 1, P. 366, Dec. 2016, Doi: 10.1186/S13256-016-1118-X.
- [19] S. Lawrensia, “Diagnosis Dan Tatalaksana Arthritis Tuberkulosis,” *Cermin Dunia Kedokt.*, Vol. 47, No. 8, P. 400027, 2020, Doi: 10.55175/Cdk.V47i8.773.
- [20] C. Pigrau-Serrallach And D. Rodríguez-Pardo, “Bone And Joint Tuberculosis,” *Eur. Spine J.*, Vol. 22, No. Suppl 4, Pp. 556–566, Jun. 2013, Doi: 10.1007/S00586-012-2331-Y.