

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam dunia kedokteran khususnya ilmu bedah terdapat fenomena tindakan pembedahan yang menimbulkan dampak destruktif bagi pasien. Salah satunya adalah perlekatan organ peritoneal atau adhesi intraperitoneal. Kasus yang paling umum terjadinya adhesi adalah terletak pada rongga abdomen atau rongga perut ketika paska pembedahan atau peradangan yang berhubungan dengan usus, baik usus halus (*intestinium*) maupun usus besar (*colon*).

Parker, MC. (2001) menemukan bahwa adhesi pasca operasi terjadi sekitar 90% dari pasien yang mengalami tindakan pembedahan abdomen serta setidaknya sepertiga pasien kembali terjadi adhesi setelah 10 tahun berikutnya. Levrant, SG. (1997) juga menemukan bahwa bahwa rerata pasien mengalami adhesi setelah operasi peritoneal.

Berdasarkan data dari *National Emergency Laparotomy Audit* (NELA) di Inggris, adhesi terjadi pada *intestinium* terlapor sebanyak 51% akibat tindakan laparotomies darurat. Adhesi pada *intestinium* menjadi kasus umum yang terjadi bersamaan dengan prosedur reseksi *intestinium* dan adhesiolisis (Scott *et al*, 2016). Kasus ini dianggap berbahaya dimana salah satu indikatornya adalah rawat inap tanpa tindakan pembedahan dengan rata-rata 8 hari (Ja, Kossi *et al*, 2004 didalam ten Broek *et al*, 2018). dengan diantara 20% dan 30% pasien dengan kasus adhesi *intestinium* harus menjalani tindakan pembedahan (Ve, pricolo *et al*, 2016). Adhesi pada umumnya terjadi akibat paska operasi tersebut juga memakan biaya tinggi. Hal tersebut berdasarkan studi Krielen, P *et al*. (2016) di Belanda memakan biaya €16,305 untuk biaya operasi.

Peritonitis juga menjadi salah satu penyebab adhesi pada peritonel. Pada tahun 2008, Departemen Kesehatan Republik Indonesia menemukan bahwa Indonesia mempunyai tingkat kasus yang tinggi pada penyakit peritonitis yaitu sebanyak 7% dari keseluruhan penduduk Indonesia yaitu 197.000 jiwa. Tingginya

penderita penyakit peritonitis dapat dilihat dari surveilans epidemiologi oleh Dinas Kesehatan Jawa Tengah dimana pada Provinsi Jawa Tengah terjadi sebanyak 5980 kasus dengan nilai mortalitas 177 orang. Sehubungan dengan tingginya kasus peritonitis yang mengalami komplikasi dapat menjadi indikator tingginya adhesi peritoneal yang terjadi. Pengobatan atau preventif dari adhesi peritoneal dapat menjadi salah satu solusi pengobatan peritonitis. Data eksperimental menunjukkan bahwa penggunaan agen anti-adhesif dalam peritonitis mengurangi adhesi dan abses serta mortalitas terkait (Shulman *et al*, 2005 didalam Goor, V.H *et al*, 2007). Pencatatan data tentang penyakit adhesi maupun penanganannya di Indonesia cukup minim dan tidak terintegrasi dengan baik dikarenakan penyakit adhesi merupakan penyakit derivatif. Sebab tersebut menyebabkan kesadaran akan penyakit adhesi baik dari pihak dokter maupun pasien cukup rendah sehingga tidak adanya tindakan preventif. Salah satu indikator lainnya berhubungan dengan mahalanya biaya yang diperlukan dalam pengobatan anti adhesi berbentuk *barrier hydrogel*. Biomaterial hidrogel anti adhesi ini dapat menjadi solusi cepat serta biaya rendah terhadap kasus adhesi di Indonesia. Biomaterial hidrogel anti adhesi tersebut haruslah bersifat biokompatibel, serta memenuhi prasyarat dalam *barrier* anti adhesi itu sendiri.

Li *et al* (2014) melakukan penelitian anti adhesi hidrogel berbasis asam hialuronat - kitosan. Dengan karakterisasi material menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) untuk melihat morfologi, analisa reologi untuk melihat *gelation time*, uji *swelling*, uji in vitro yang melibatkan uji sitotoksisitas menggunakan MTT-*assay*, uji sitokompatibilitas, hemolisis, serta uji in vivo yang melibatkan pengujian toksisitas akut yang diamati dengan analisa histopatologi, evaluasi anti adhesi dengan pemberian skor bila ada/tidaknya adhesi. Li mendapatkan bahwa dibutuhkan waktu 75 s untuk mencapai bentuk gel dengan nilai G' dan G'' naik secara bersamaan, namun saat *crosslink* terjadi nilai G' naik lebih cepat dibandingkan G'' . Pada hasil SEM didapatkan bahwa hidrogel yang dikembangkan menunjukkan struktur yang sangat berporing dari saling berhubungan dimana Li berkesimpulan hidrogel memiliki permeabilitas tinggi untuk nutrisi dan mendukung bertumbuhan sel. Pengujian degradasi secara in vitro dilakukan pada

PBS dan larutan lisosom didapatkan pada larutan lisosom degradasi terjadi sangat cepat namun pada PBS degradasi sesuai dengan proses penyembuhan mesothelium yaitu dengan degradasi 40% pada hari ke 5 dan 80% pada hari ke 10. Pada uji toksisitas dengan MTT-*assay* digunakan sel tipe NIH-3T3 dengan hasil viabilitas sel 50%-70% dengan bahan Kitosan-HA dan masih mengandung sedikit toksisitas dimana Li menyimpulkan hidrogel basis ini cocok untuk preventif adhesi. Pada uji degradasi secara *in vivo*, hidrogel benar-benar hilang setelah 14 hari dan tidak adanya kemerahan atau pembekakan pada daerah sekitar injeksi namun pada analisa histopatologi terdapat perubahan jaringan disekitar injeksi. Dua hari paska hidrogel terdegradasi terlihat neutrofil dan makrofag meningkat pada jaringan luka namun neutrofil tidak ditemukan pada jaringan disekitar luka. Kelemahan dari penelitian ini adalah penelitian ini memanfaatkan kitosan sebagai anti-bakteri namun tidak memiliki uji yang dapat memastikan sifat kitosan tersebut. Juga kitosan memiliki kelemahan tertentu seperti sulit terdegradasi.

Penelitian ten Broek, R.P.G (2011) menggunakan *SprayGel (Confluent Surgical, Waltham, MA)*. Basis yang digunakan adalah hidrofilik polietilen glikol (PEG) yang dibentuk dengan aplikasi bersamaan antara dua *prekursor* cair ke target. Penelitian dilakukan dengan metode *randomize controlled trials (RCTs)* dengan jumlah 4 pasien. Berdasarkan peninjauan, prekursor PEG dengan cepat saling berpolimerasi menjadi hidrogel *solid* sehingga memudahkan dokter aplikasi barrier (Johns DA, *et al*, 2003). PEG bertahan dalam jangka waktu 5-6 hari dimana cukup panjang untuk peritoneal sembuh (Reijnen MM, *et al*, 2003), degradasi dari hidrogel cepat dan bersih di dalam urin. Namun penelitian ini terbatas pada analisis pencegahan adhesi dan bukan komplikasi klinis adhesi seperti infertilitas atau ASBO.

Penelitian Annaqiyah *et al* (2018) dalam anti adhesi menggunakan asam hyaluronat (HA) - *Methycellulose* (MC) - AgNPs berbasis hidrogel dengan karakterisasi uji *swelling*, uji degradasi, uji sitotoksitas, uji FTIR, uji anti-bakteri, uji *tensile*. Pada penelitian ini Annaqiyah menggunakan *Staphylococcus aureus* dalam uji anti bakteri menunjukkan semakin tinggi konsentrasi AgNPs semakin tinggi sensitivitas anti-bakteri dimana Annaqiyah menyimpulkan bahwa sampel baik

dalam aplikasi anti mikroba. Pada uji degradasi *in-vitro*, material terdegradasi kurang 87.8 - 95.2% pada hari ke 11 dimana dapat diindikasikan baik dalam anti-adhesi intraperitoneal juga diketahui rasio degradasi menurun bersamaan dengan naiknya konsentrasi AgNPs. Hal tersebut disebabkan kuatnya ikatan *crosslink* sehingga hidrogel menjadi lebih stabil dan tidak mudah terdegradasi. Kelemahan dari penelitian ini adalah tidak adanya uji *in-vivo* dan AgNPs didapatkan dengan sintesis kimiawi dimana kemurnian dari AgNPs terbilang rendah.

Salah satu bahan yang dapat diajukan adalah asam hialuronat (HA) sebagai anti adhesi. Asam Hialuronat memiliki karakteristik biokompatibilitas yang baik dan biodegradabilitas sehingga HA memiliki peran penting dalam *drug delivery*, teknik jaringan, *wound healing*, serta anti adhesi (E, Sanz *et al*, 2011). Struktur larutan hialuronat menggambar karakteristik HA dimana bersifat hidrofilik di alam dan digambarkan sebagai pelembab dan pelumas alami (Necas *et al*, 2008 didalam E, Sanz *et al*, 2011). Pada konsentrasi tinggi rantai polimer hialuronat memiliki viskositas tinggi. Seperti contoh pada larutan 1% HA berbentuk gel sehingga mudah diaplikasikan melalui jarum kecil. Sifat reologi ini menjadikan HA ideal sebagai pelumas dimana HA dapat memisahkan sebagian besar permukaan jaringan yang saling bergeser atau menempel (adhesi) (Cowman and Matsuoka, 2005 didalam E, Sanz *et al*, 2011).

Kitosan adalah turunan kitin yang terdeasetilasi ini telah diterapkan dalam biomedis dikarenakan sifat biokompatibilitas, anti bakteri dan biodegradabilitasnya walaupun memiliki kelarutan yang buruk (A, Khademhosseini *et al*, 2011) dan kitosan hanya aktif menjadi anti bakteri pada *medium acid* dikarenakan sifat kelarutannya yang buruk diatas pH 6,5 (Rabea, Enstasr I *et al*, 2003 didalam A, Khademhosseini *et al*, 2011). Salah satu kelebihan dari kitosan adalah sifat antimikroba nya. Aksi antimikroba kitosan dipengaruhi oleh faktor seperti jenis dari kitosan, tingkat polimerasi kitosan, inang dari mikroba, komposisi kimia dari substrat atau keduanya, dan kondisi lingkungan seperti kelembaban. Aktivitas antimikroba kitosan lebih cenderung efektif ke jamur dan ganggang daripada bakteri (Savard, T. *et al*, 2002 didalam Khademhosseini, A *et al*. 2011). Keunggulan kitosan dari jenis desinfektan lainnya dikarenakan aktivitas antibakteri

yang lebih tinggi, spektrum aktivitas yang luas, dan tingkat pembunuhan sel yang tinggi, namun memiliki toksisitas yang rendah terhadap sel mamalia (Takemono, K. 1989 didalam Khademhosseini, A *et al.* 2011).

Penambahan *silvernano partikel* (AgNPs) digunakan sebagai antibakteri dan aktivitas perlawanan kuat terhadap mikroorganisme baik secara morfologis dan metabolik dengan mekanisme beragam dengan interaksi antara nanopartikel dengan mikroba dengan metode adhesi sel (Franci, Gianluigi *et al.*, 2015). Ion perak mengikat protein dan asam nukleat bermuatan negatif, menyebabkan perubahan struktural dan deformasi di dinding, di membran dan asam nukleat dari sel bakteri (Wu, D. *et al.*, 2014). Studi menggunakan bakteri *Escherichia coli* juga menegaskan bahwa akumulasi AgNPs dalam sel membran menciptakan serangkaian predisposisi atau kecenderungan khusus untuk meningkatkan permeabilitas dan berujung dengan kematian sel tersebut (Lazar, V. *et al.*, 2011). Hal tersebut menunjukkan *silvernano partikel* berpotensi tinggi sebagai agen antibakteri dalam anti adhesi intraperitoneal sebagaimana yang ditemukan Wong, K.Y *et al.* (2009) bahwa *nanosilver particle* (AgNPs) dapat menurunkan derajat adhesi peritoneum namun kelemahan dari penelitian ini adalah ketika AgNPs disuntikkan pada intraperitoneal kemungkinan terbesar akan diencerkan oleh cairan tubuh sehingga menghambat kematian sel sebagai mekanisme aksi anti - inflamasi dari AgNPs dikarenakan studi ini hanya menggunakan AgNPs saja tanpa menggunakan tambahan ikatan lainnya (Necas *et al.*, 2008 didalam E, Sanz *et al.*, 2011).

Pada penelitian yang dilakukan Hanum (2015) dilakukan sintesis hidrogel menggunakan asam hialuronat - kitosan - AgNPs, dimana AgNPs disintesis dari *Curcuma longa*. Didapatkan bahwa hidrogel memiliki viabilitas sel yang buruk dikarenakan adanya pengaruh dari AgNPs sebesar 1,88%. Pada uji anti bakteri menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan bahwa seiring dengan kenaikan konsentrasi semakin besar zona hambat, namun pada penelitian ini keefektifan dari zona hambat hanya mencapai 10,29 mm atau kategori zona hambat sedang. Kelemahan dari penelitian ini adalah tidak adanya uji *in vivo* dan kurangnya efektifitas dari AgNPs dapat disebabkan karena impuritas dari AgNPs saat proses biosintesis.

Berdasarkan latar belakang di atas, telah dilakukan sintesis dari hidrogel asam hialuronat - kitosan - AgNPs dengan penggunaan AgNPs murni sebagai agen anti adhesi dimana kitosan dan silver nanopartikel sebagai anti bakteri dan perlawanan kuat terhadap mikroorganisme dengan komposisi perbandingan asam hialuronat dan kitosan adalah 30 : 10 mg/mL dengan variasi karakterisasi dari AgNPs murni dengan kelompok kontrol [0] ppm, [2] ppm, [3] ppm, [5] ppm. Karakterisasi dilakukan secara *literature review* dikarenakan terjadi kendala pandemi COVID-19 yang menyebabkan terhentinya penelitian langsung. Literature review dari karakterisasi untuk mengetahui keunggulan dari anti adhesi ini diamati dari uji anti bakteri untuk melihat bagaimana peran anti bakteri dari AgNPs dan kitosan terhadap bakteri *S. aureus*, *Methyl Thiazolyl Tetrazolium Assay* (MTT Assay) untuk menguji tingkat viabilitas sel saat dikontakkan dengan material implan, uji *scanning electron microscope* (SEM) berfungsi untuk mengetahui morfologi permukaan dari material. Serta uji *in vivo* dengan *gross observation* untuk melakukan *scoring* pada hewan coba paska pemberian material, serta melihat analisis histopatologi dengan melihat keberadaan inflamasi dengan indikator neutrofil, keberadaan nekrosis, serta *remesothelialisasi*. Berdasarkan *literature review* tersebut didapatkan bahwa hidrogel dengan bahan asam hialuronat - kitosan - AgNPs dapat digunakan sebagai solusi anti adhesi intraperitoneal dengan agen anti bakteri.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana hasil karakterisasi asam hialuronat-kitosan-*silver nanoparticle* (AgNPs) sebagai anti adhesi intraperitoneal melalui uji anti bakteri, uji MTT Assay, uji SEM?
2. Bagaimana hasil pengamatan asam hialuronat-kitosan-*silver nanoparticle* (AgNPs) pada hewan coba sebagai anti adhesi intraperitoneal melalui uji *in vivo*?

1.3 Batasan Masalah

1. Asam Hialuronat didapat dari Sigma Aldrich.
2. Kitosan dengan DD 85% didapat dari CV. Bio Chitosan Indonesia, AgNPs didapat dari Sigma Aldrich.

3. Perbandingan konsentrasi asam hyaluronat : kitosan = 30 : 10 mg/mL adalah perbandingan konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini.
4. Digunakan 1 sampel kontrol dengan konsentrasi 0 M dan 1 sampel terbaik dengan dari konsentrasi AgNPs yaitu 3 ppm.
5. Digunakan 3 sampel dalam uji *in vivo*, yaitu kelompok kontrol negatif yaitu tanpa perlakuan, kelompok interval merupakan hasil sintesis terbaik, kelompok positif menggunakan *barrier* anti-adhesi yang ada di pasaran.
6. Karakterisasi yang dilakukan meliputi uji anti bakteri, uji MTT-Assay, uji SEM.
7. Studi *in-vivo* dilakukan dengan pengamatan histopatologi dari hewan coba tikus putih *wistar* yaitu indikator inflamasi neutrofil, nekrosis, remesotheliasisasi serta pengamatan *gross observation* untuk skoring adhesi juga fase penyembuhan secara makroskopik.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui hasil karakterisasi material dari viabilitas sel, struktur permukaan, serta aktivitas anti bakteri dari material yang dilakukan dengan hidrogel berbasis asam hialuronat dengan penambahan kitosan – *silver nanoparticle* (AgNPs) untuk anti-adhesi intraperitoneal.
2. Mengetahui perkembangan dan efek dari hidrogel asam hialuronat dengan kitosan – *silver nanoparticle* (AgNPs) pada bagian yang diberikan perlakuan pada hewan coba sebagai anti-adhesi intraperitoneal

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1. Manfaat Teoritis

Manfaat teoritis dari penelitian ini merupakan terciptanya acuan teori untuk karakteristik material dan studi *in vivo* pada tikus putih terhadap hidrogel asam hialuronat kitosan – *silver nanoparticle* (AgNPs) sebagai antiadhesi intraperitoneal.

1.5.2. Manfaat Praktis

Manfaat praktis dari penelitian ini merupakan terbentuknya kandidat antiadhesi dengan asam hialuronat kitosan – *silver nanoparticle* (AgNPs) yang dapat mencegah terjadinya adhesi di intraperitoneal.