

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Tulang merupakan jaringan ikat dinamis dengan vaskularisasi tinggi yang terus mengalami *remodeling* sepanjang hidup seseorang. Tulang memiliki fungsi krusial sebagai pelindung organ-organ penting dalam tubuh seperti tulang tengkorak yang berfungsi melindungi otak dari benturan, tulang rusuk yang berfungsi melindungi paru-paru, dan sebagainya. Itulah sebabnya apabila terjadi kerusakan tulang akan sangat membahayakan bagi tubuh. Cacat tulang dapat timbul akibat kecelakaan, tumor, trauma atau penyakit tulang, sehingga perlu dilakukan penggantian tulang yang rusak. Tulang autogenik atau alogenik telah digunakan sebagai pengganti dalam pengobatan cacat. Namun, kekurangan pasokan, kebutuhan operasi sekunder untuk pengadaan tulang autogenous dan respon imun yang disebabkan karena penggunaan tulang alogenik telah menarik perhatian peneliti terhadap pengembangan cangkok tulang sintesis (Shitole, 2019).

Kasus defek tulang sering dijumpai dalam bidang orthopedi. Dalam penanganannya, diperlukan pencangkokan tulang pada bagian yang mengalami kerusakan tersebut. Jaringan kedua terbanyak yang ditransplantasikan setelah darah adalah tulang. Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan pada tahun 2018 menunjukkan bahwa patah tulang sebagai penyebab terbanyak keempat dari cedera di Indonesia, tercatat angka kejadian fraktur sebanyak 5,5%. Sedangkan prevalensi cedera menurut bagian tubuh, cedera pada bagian ekstremitas bawah memiliki prevalensi tertinggi mencapai 67,9% (Kemenkes RI, 2018). Banyak faktor yang mempengaruhi kejadian patah tulang salah satunya adalah umur. Patah tulang dibawah 17 tahun mencapai 11,4% dibandingkan dengan kelompok umur lainnya. Terdapat beberapa jenis *graft* tulang yang banyak digunakan pada bidang orthopedi, yaitu *autograft*, *allograft*, dan *xenograft*. Komposisi *graft* yang digunakan adalah 60% menggunakan *autograft*, 34% menggunakan *allograft*, dan sisanya 6% menggunakan material lain (Ferdiansyah, *et al.*, 2011). *Autograft*

merupakan *graft* tulang yang berasal dari donor pasien itu sendiri sehingga dalam tekniknya harus melalui operasi yang dapat menimbulkan masalah-masalah klinis lain seperti rasa nyeri pada daerah bagian pengambilan tulang serta menimbulkan kecacatan karena harus mengambil bagian tulang yang lain. *Allograft* merupakan *graft* tulang yang berasal dari donor manusia lain sedangkan untuk *xenograft* merupakan *graft* tulang dari donor spesies lain selain manusia sehingga kedua *graft* tersebut dapat menimbulkan reaksi autoimun serta kemungkinan terjadinya transfer penyakit. Selain itu, kendala lain yang dihadapi adalah sulitnya memperoleh donor tulang sehingga ketersediaan *graft* tulang terbatas (Darwis, 2008). Proses penyembuhan defek tulang dapat dilakukan dengan menggunakan material pengganti yaitu *bone graft* (Sari, *et al.*, 2017). *Bone graft* merupakan material yang berfungsi membantu rekonstruksi, menstabilkan struktur dan ikatan pada tulang, serta menstimulasi proses osteogenesis dan penyembuhan kerusakan tulang yang besar (Widyaning, 2012).

Banyaknya jumlah kasus kerusakan tulang ini mendorong banyak peneliti untuk mengembangkan berbagai material yang dapat digunakan untuk memperbaiki kerusakan tulang (biomaterial). Salah satu diantaranya yaitu untuk rekayasa jaringan tulang. Rekayasa jaringan adalah salah satu cabang ilmu yang bertujuan untuk merekonstruksi jaringan hidup sebagai pengganti jaringan atau organ tubuh yang rusak atau hilang, dengan harapan bisa mempertahankan, mengembalikan, dan meningkatkan sebagian maupun seluruh fungsi organ hidup organisme (Kim, 2011). Rekayasa jaringan tulang membutuhkan tiga hal penting yaitu sel yang sesuai, faktor pertumbuhan untuk fungsi sel, dan *scaffold* yang berfungsi mirip dengan matriks ekstraseluler matriksa (ECM) (Udomluck, *et al.*, 2020).

Nanofibers dapat menjadi kandidat *bone scaffold* yang efektif karena dapat diatur sedemikian rupa hingga memiliki sifat morfologi yang mirip dengan ekstraseluler matriks (ECM). Diameter fiber dan porositas dalam proses fabrikasi *nanofiber* dapat diatur agar sesuai dengan sel dan komponen ekstraseluler matriks (ECM) guna mendukung terjadinya adhesi sel. Serta *high surface area to volume ratio* atau rasio luas permukaan terhadap volume *nanofibers* yang tinggi

memungkinkan adsorpsi yang baik dan imobilisasi sel yang tinggi (Udomluck, *et al.*, 2019). Dewasa ini, banyak metode fabrikasi fiber yang tersedia seperti *self-assembly* dan *phase*. Di antara metode tersebut, *electrospinning* telah menarik banyak perhatian dari para peneliti rekayasa jaringan dikarenakan metode ini cukup sederhana dan membutuhkan biaya yang cukup hemat. Selain itu, metode *electrospinning* dapat digunakan untuk membuat *fibers* dengan diameter sub-mikron dan porositas yang tinggi. *Scaffold* yang difabrikasi dengan metode *electrospinning* menawarkan potensi besar untuk menciptakan lingkungan mikro yang mendukung pembentukan tulang. Metode *electrospinning* juga memungkinkan pembuatan *nanofiber nonwoven* dari berbagai jenis polimer, termasuk polimer yang *biodegradable* dan biokompatibel, serta senyawa yang terdiri dari bahan anorganik (Li, *et al.*, 2015). *Electrospinning* dari polimer *nanofibers* bersama dengan pencampuran biomolekul telah banyak digunakan oleh beberapa peneliti untuk menggabungkan biomolekul dalam *nanofibers* atau untuk memfungsionalisasikan *nanofibers* untuk aplikasi rekayasa jaringan. Pemilihan biomaterial yang tepat juga sangat diperlukan dalam proses pengganti tulang. *Scaffold* rekayasa jaringan yang akan digunakan untuk regenerasi tulang harus bersifat osteogenik (membantu pembentukan tulang), osteokonduktif (mendukung pertumbuhan tulang dan mendorong pertumbuhan tulang di sekitarnya), osteointegratif (berintegrasi ke dalam tulang di sekitarnya), biokompatibel, *biodegradable*, dan secara struktural mirip dengan tulang. Berbagai bahan termasuk keramik bioaktif, kaca, polimer biologis atau sintesis telah diselidiki sebagai pengganti untuk mengembangkan cangkok tulang (Shitole, 2019).

Material yang memenuhi kriteria tersebut yaitu hidroksiapatit. Hidroksiapatit merupakan senyawa bagian dari kelompok mineral apatit dengan rumus kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ yang memiliki kesamaan komposisi kimia dengan jaringan tulang (Giat S., *et al.*, 2012). Sifat hidroksiapatit yang biokompatibel dan dapat diterima jaringan tubuh menjadikan material ini dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan biomaterial yang dapat mengobati, menambah, atau mengganti jaringan organ atau fungsi dari tubuh, juga sebagai adsorben,

fotokatalis, pelapis material, dan berperan dalam bidang bioteknologi (Saleha, *et al.*, 2015).

Kolagen merupakan material yang memiliki banyak keuntungan termasuk sifat biokompatibilitas dan biodegradabilitas yang baik untuk berbagai aplikasi biomedis. Selain itu, kekuatan mekanik dan bioaktivitas bahan kolagen dapat ditingkatkan secara efisien melalui hibridisasi dengan fase anorganik bioaktif seperti hidroksiapatit sehingga lebih menarik untuk regenerasi jaringan tulang (Teng, *et al.*, 2016).

Komposit hidroksiapatit – kolagen adalah *bone graft* sintesis yang struktur dan komposisinya mirip dengan tulang alami. Komposit kolagen hidroksiapatit saat ditanamkan dalam tubuh manusia menunjukkan sifat osteokonduktif yang lebih baik dibandingkan dengan hidroksiapatit monolitik dan menghasilkan struktur matriks tulang yang sama dengan tulang alami. Oleh sebab itu, hidroksiapatit – kolagen merupakan material yang biokompatibel (Saraswati, 2015). Beberapa penelitian tentang komposit hidroksiapatit – kolagen telah dilakukan oleh peneliti sebelumnya. Saraswati (2015) yang telah melakukan sintesis komposit hidroksiapatit – kolagen dengan tiga variasi suhu dan waktu menghasilkan komposit dengan ukuran pori 100 – 250 μm . *Scaffold* nHA-kolagen menyediakan struktur berpori seperti *sponge* yang memenuhi kriteria *scaffold* ideal dalam menyediakan ruang tiga dimensi untuk transfer nutrisi sel tulang. Pada saat yang sama, partikel n-HA meningkatkan *roughness* pada permukaan, sehingga meningkatkan luas permukaan *scaffold*, yang lebih kondusif untuk adhesi sel. Oleh karena itu, kombinasi komposit HA dan kolagen *scaffold* dapat digunakan untuk menghasilkan *scaffold* yang efektif dalam regenerasi jaringan tulang. Namun salah satu kekurangan nanopartikel HA adalah memiliki nilai modulus elastisitas tinggi dimana nilai modulus elastisitas berkisar antara 39-125 GPa bergantung pada porositas, kerapatan, *sinterability*, kristalinitas, komposisi fasa, dan lain sebagainya (Catledge, *et al.*, 2007). Dengan tingginya nilai modulus elastisitas HA ini akan membuat *bone scaffold* lebih rapuh atau *brittle*, kurang fleksibel, dan menurunkan tegangan putus atau *stress at break*. Nilai Modulus Young fibril kolagen sebesar 0.1-1.5 GPa. Pada penelitian yang dilakukan oleh

Catledge, *et al.*, 2007 bahkan dengan penambahan kolagen pada HA nilai modulus elastisitas yang didapatkan masih cenderung tinggi yaitu 3.90 GPa. Oleh karena itu perlu ditambahkan PLA untuk meningkatkan *mechanical properties* atau sifat mekanika dari *bone scaffold*.

Polimer biodegradable sintetis (PLA, PLGA, PLLA, PCL, PGA) baru-baru ini berkembang sebagai fiber, membran, atau tambalan untuk berbagai aplikasi biomedis (Sharma, 2019). Sejak tahun 1970-an, *PolyLactic Acid* (PLA) telah banyak digunakan. PLA memiliki dua bentuk polenantiomerik yaitu asam *Poly (L-Lactic Acid)* (PLLA) dan asam *Poly (D- Lactic Acid)* (PDLA). PDLA memiliki laju degradasi yang jauh lebih tinggi daripada PLLA. PLA adalah polimer keras dan transparan dengan kekuatan tarik sebesar 21 - 60 MPa serta mampu terdegradasi sepenuhnya menjadi asam laktat dalam jangka waktu mulai dari 10 bulan sampai 4 tahun, tergantung pada berat molekul, derajat kristalin, bentuk material, dan tempat implantasi (Ge, *et al.*, 2006). Penggunaan PLA tidak berbahaya bagi tubuh sehingga sering diaplikasikan dalam dunia medis seperti regenerasi jaringan, penyembuhan patah tulang, dan benang bedah (Radono, *et al.*, 2002). PLA memiliki modulus elastisitas sekitar 0,35 - 3,5 GPa (Khan, *et al.*, 2020).

Pada penelitian Wenzhao, dkk (2021) telah dilakukan sintesis *scaffold* dengan material hidroksiapatit – *PolyLactic Acid* dengan variasi 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50% n-HA dibuat untuk pencetakan 3D *scaffold* jaringan tulang berpori. Dari hasil penelitian didapatkan sifat mekanik sampel silinder dari kelompok Pn0 hingga kelompok Pn30 masih dapat mempertahankan integritas struktur setelah uji tekanan, yang membuktikan bahwa sampel ini mempertahankan elastisitasnya. Namun, ketika rasio n-HA mencapai lebih dari 40%, sampel yang dicetak menjadi rapuh dan tidak dapat mempertahankan bentuk yang lengkap setelah kompresi. Pn0 dapat menahan intensitas tekanan maksimum, yang membuktikan bahwa penambahan n-HA mempengaruhi stabilitas struktural PLA. Semakin besar proporsi n-HA, semakin rendah kekuatan mekaniknya. Hasil sifat mekanik konsisten dengan perubahan tren morfologi di bawah mikroskop elektron pencacah. Selanjutnya membandingkan porositas sampel cetakan 3D

dengan bentuk yang sama. Ditemukan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dalam porositas antara enam kelompok dari Pn0 ke Pn50. Hasil penelitian menunjukkan bahwa proporsi n-HA pada komposit PLA/n-HA yang diproduksi dengan metode komposit basah tidak mempengaruhi porositas. Penambahan n-HA akan mengubah struktur mikro matriks PLA, yang secara langsung tercermin dalam sifat mekanik. Dalam penelitian ini, 30% n-HA lebih tinggi dari nilai kritis. Penambahan n-HA dengan kandungan tinggi akan berpengaruh negatif terhadap daktilitas PLA. Bahkan dengan penambahan n-HA, sifat mekanik komposit menurun, tetapi masih jauh lebih tinggi daripada keramik berpori HA murni (sekitar 5,5 MPa) dan tulang kanvas manusia alami (1-12 MPa). Karakterisasi bahan *in vivo* dan *in vitro* percobaan bahan komposit berturut-turut membuktikan bahwa *scaffold* PLA/n-HA memiliki kekuatan mekanik yang cukup, tidak beracun dan tidak menghambat, dan dapat mempromosikan perbaikan cacat tulang (Wenzhao, *et al.*, 2021).

Pada penelitian Camalia (2019) telah dilakukan sintesis *scaffold* dengan material hidroksiapatit, *PolyLactic Acid*, dan *Ethyl Cellulose* (EC) dengan variasi komposisi agen *crosslink Sodium Trimethaphosphate* 6%, 8%, 10%, 12%, dan 14% serta perbandingan komposisi hidroksiapatit : *PolyLactic Acid* : EC sebesar 8,8 : 0,8 : 0,4 gram. Dari hasil penelitian hidroksiapatit – *PolyLactic Acid* – EC diperoleh nilai kuat tekan tertinggi mencapai 5,37 MPa dan nilai tersebut telah memenuhi standar nilai *compressive strength* untuk *cancellous bone* sebesar 2–12 MPa. Karakteristik terbaik dari *scaffold* diperoleh dengan komposisi agen *crosslink Sodium Trimethaphosphate* 14% yang memiliki rata-rata ukuran 100–294 μm yang memungkinkan terjadinya pertumbuhan sel. Persentase porositas sebesar 63,17% dan tidak bersifat toksik karena nilai persentase sel hidup di atas 50%.

Pada penelitian Luthfia (2021) telah dilakukan sintesis *bone scaffold electrospun nanofiber* berbasis hidroksiapatit – PCL – kolagen untuk menciptakan lingkungan mirip dengan ekstraseluler matriks (ECM) yang mendukung *remodeling* tulang. Sintesis sampel *bone scaffold* menggunakan Metode *electrospinning* dan terdiri dari 2 sampel kontrol yaitu PCL – HA dan PCL – kolagen dengan rasio komposisi sebesar 50:50 (wt%) dan 3 sampel dengan

komposisi rasio massa HA – PCL – kolagen 50:40:10, 50:30:20, 50:25:25 (wt%). Hasil FTIR dari sampel menunjukkan tidak ada ikatan kimia yang terjadi diantara material. Karakteristik terbaik sebagai kandidat *bone scaffold* dimiliki oleh sampel HA/PCL/kolagen 50:25:25 dengan diameter fiber 365 ± 202 nm; tingkat kristalinitas 33.617% dan ukuran kristal 46.142 nm; *ultimate tensile strength* dan modulus elastisitas berturut-turut adalah 0.60 ± 0.185 MPa dan 5.98 ± 0.82 MPa; porositas 90.67%; laju degradasi 1.93×10^{-6} g/h; serta viabilitas sel 81.03%. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa HA/PCL/kolagen memiliki potensi yang baik sebagai *bone scaffold* untuk mempercepat *remodeling* tulang.

Polycaprolactone (PCL) dan *PolyLactic Acid* (PLA) memiliki sifat yang sama yaitu dapat terdegradasi namun juga memiliki perbedaan yang sangat jelas dari sifat fisiknya yaitu pada polimer *Polycaprolactone* (PCL) memiliki sifat fisik yang sangat rapuh dan kaku sehingga sangat mudah patah, sedangkan *PolyLactic Acid* (PLA) memiliki sifat fisik yang fleksibilitas dan cukup kuat (Mukhsin, 2018). Keunggulan dari *PolyLactic Acid* yaitu memiliki sifat mekanik yang baik, biokompatibel, tingkat degradasi yang baik, dan tidak menimbulkan respon inflamasi apabila diaplikasikan dalam tubuh (Narayanan, *et al.*, 2016). Fitur perancah berpori HA/PLA juga mirip dengan tulang alami yang memiliki porositas 70–90% dan ukuran pori $300\text{--}400 \pm 150\mu\text{m}$ (Xing, *et al.*, 2016).

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah diuraikan di atas, maka akan dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pembuatan *electrospun nanofiber* hidroksiapatit – *PolyLactic Acid* – kolagen untuk mendapatkan kandidat *bone scaffold* dengan karakteristik terbaik dalam upaya perbaikan kerusakan tulang.

1.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh variasi komposisi hidroksiapatit – *PolyLactic Acid* – kolagen terhadap karakteristik *electrospun nanofiber* hidroksiapatit – *PolyLactic Acid* – kolagen ditinjau dari analisis gugus fungsi, ukuran diameter fiber, kristalinitas, ukuran kristal, porositas, laju degradasi, modulus elastisitas, elongasi, dan viabilitas sel?
2. Berapa komposisi hidroksiapatit – *PolyLactic Acid* – kolagen yang memiliki karakteristik terbaik untuk mendapatkan kandidat *bone scaffold* sebagai upaya perbaikan kerusakan tulang?

1.3. Batasan Masalah

1. Perbandingan *PolyLactic Acid* – hidroksiapatit dan *PolyLactic Acid* – kolagen dengan rasio komposisi sebesar 50:50 (wt%) serta hidroksiapatit – *PolyLactic Acid* – kolagen yaitu sebesar 50:40:10, 50:30:20, dan 50:25:25 (wt%).
2. Parameter dalam *electrospinning* yaitu jarak *needle* ke kolektor 15 cm, *flow rate* 2 mL/jam, dan besar tegangan 20 kV.
3. Karakterisasi yang dilakukan meliputi uji analisa gugus fungsi melalui uji spektroskopi FTIR, uji XRD, uji morfologi SEM, uji porositas, uji degradasi, uji kuat tarik (*tensile strength*), dan uji sitotoksitas MTT *Assay*.

1.4. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh variasi komposisi hidroksiapatit – *PolyLactic Acid* – kolagen terhadap karakteristik *electrospun nanofiber* hidroksiapatit – *PolyLactic Acid* – kolagen ditinjau dari analisis gugus fungsi, ukuran diameter fiber, kristalinitas, ukuran kristal, porositas, laju degradasi, modulus elastisitas, elongasi, dan viabilitas sel.

2. Mengetahui komposisi hidroksiapatit – *PolyLactic Acid* – kolagen yang memiliki karakteristik terbaik untuk mendapatkan kandidat *bone scaffold* sebagai upaya perbaikan kerusakan tulang.

1.5. Manfaat Penelitian

1. Sebagai bahan acuan tentang sintesis dan karakterisasi *electrospun nanofiber* hidroksiapatit – *PolyLactic Acid* – kolagen pada *bone scaffold* sebagai upaya perbaikan kerusakan tulang.
2. Menghasilkan *electrospun nanofiber* hidroksiapatit – *PolyLactic Acid* – kolagen sebagai upaya perbaikan kerusakan tulang.