

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Stroke merupakan penyebab disabilitas dan kematian yang tinggi di dunia. Berdasarkan diagnosis, prevalensi penderita *stroke* mencapai 713.783 jiwa di Indonesia (Kemenkes, 2018). Terdapat 25% kasus *stroke* yang disebabkan iskemik pada arteri serebral besar akibat dari penyempitan arteri, dimana 85% kasus stenosis terletak pada arteri karotis (Radic, 2017).

Stenosis pada percabangan pembuluh darah karotis (*carotid stenosis*) adalah salah satu penyebab dari *stroke* infark. Tindakan klinis yang dilakukan untuk menangani stenosis arteri karotis adalah tindakan endovaskular dengan *carotid artery stenting* (CAS) dan pembedahan dengan *carotid endarterectomy* artery (CEA). Penanganan stenosis arteri karotis CAS dilakukan dengan menyisipkan biomaterial *stent* diantara pembuluh darah yang tersumbat oleh plak. Teknik CAS memiliki keunggulan dalam hal kenyamanan pasien (*less invasive*), pemulihan yang cepat dan komplikasi rendah (Radic, 2017).

Tindakan pembedahan dengan CEA pertama kali dilaporkan oleh Eastcott pada tahun 1954 dan menjadi standar bagi penanganan stenosis arteri karotis baik simptomatik maupun asimtomatik hingga saat ini. Indikasi tindakan CEA dilakukan pada pasien dengan stenosis berukuran 70%-99% dan hanya boleh dilakukan di pusat-pusat yang telah ditetapkan risiko peri-operatif <6% (Radic, 2017). Pada studi *carotid revascularization endarterectomy vs. stenting trial* (CREST) menunjukan bahwa CEA memberikan hasil yang lebih menguntungkan pada populasi usia lanjut dibandingkan dengan *carotid stenting*.

Hasil secara keseluruhan turut menampilkan hasil yang lebih baik pada kelompok yang mendapat intervensi CEA dibandingkan pengobatan medis konvensional (Mantese *et al.*, 2010). Hal ini sejalan dengan prevalensi *stroke* dimana lebih banyak terjadi pada usia lanjut diatas 65 tahun dan semakin bertambah tingginya angka harapan hidup (Yousufuddin *and* Young, 2019).

Standar pembedahan CEA menggunakan metode arteriotomi longitudinal, kemudian dilanjutkan dengan pengangkatan plak dan penutupan kembali pada arteri secara primer. Penutupan arteri secara primer dapat memungkinkan terjadinya restenosis dalam jangka pendek maupun jangka panjang pasca tindakan. Pada tahun 2004 Bond *et al* meneliti perbandingan penutupan secara primer dengan menggunakan *patch* angioplasti setelah CEA. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa *patch* angioplasti dapat menurunkan risiko ipsilateral *stroke* pada 30 hari pasca tindakan, risiko kematian, tingkat operasi kembali dan laju oklusi arteri dibandingkan dengan penutupan secara primer (Muto *et al.*, 2009). Berdasarkan penelitian tersebut, biomaterial *patch* angioplasti sangat diperlukan pada prosedur penutupan CEA.

Biomaterial *patch* angioplasti telah banyak diaplikasikan secara klinis pada prosedur CEA. Biomaterial dapat diperoleh dari pembuluh vena pasien (*autologous*), biologis (*xenograft*) maupun sintesis. Kriteria ideal biomaterial sebagai *patch* angioplasti yakni; 1) stabil dan tahan dalam jangka panjang, 2) risiko restenosis rendah, 3) sifat mekanik mendekati arteri pada *host*, 4) *comfortable handling*, 5) tersedia dan siap untuk diaplikasikan 6) tidak menyebabkan koagulasi, 7) resisten terhadap infeksi dan tidak cepat terdegradasi (Muto *et al.*, 2009).

Patch autologous vena saphena mempunyai kekurangan pada ketersediaan, perbedaan kekuatan dinding pembuluh darah antara arteri dengan vena, dan resiko meningkatnya morbiditas pada pasien. Biomaterial sintetis yang saat ini digunakan secara komersial, seperti: *expanded polytetrafluoroethylene* (ePTFE) dan dakron, umum digunakan sebagai *patch* angioplasti. Kekurangan pada biomaterial sintetis berbahan ePTFE diketahui bahwa penetrasi jarum lebih sulit dilakukan sehingga memerlukan jenis jarum yang lebih besar. Hal tersebut mengakibatkan perdarahan menjadi rentan akibat lubang jahitan yang terlalu besar, selain itu juga meningkatkan lama operasi. Suatu penelitian juga melaporkan bahwa biomaterial berbahan dakron memiliki risiko *thrombosis* yang tinggi (Muto *et al.*, 2009).

Pada biomaterial *patch* angioplasti biologis yang berasal dari hewan (*xenografi*) memiliki kelebihan pada ketersediaannya yang melimpah, seperti pada jaringan perikardium dari sapi (*bovine*). Pada studi oleh Li *et al* tahun 2011 melaporkan bahwa *patch* angioplasti berbahan perikardium *bovine* berisiko menyebabkan kalsifikasi. Hal tersebut dapat menimbulkan kegagalan rekonstruksi jaringan pembuluh darah, akibat residu glutaraldehid yang dihasilkan pada proses pembuatannya (Li *et al.*, 2011).

Kandidat biomaterial yang bisa memenuhi persyaratan ideal untuk aplikasi *patch* angioplasti dirasakan perlu dieksplorasi lebih jauh sehingga bisa meminimalisir resiko morbiditas komplikasi yang mungkin terjadi. Kombinasi material antara polimer sintetis dengan polimer natural, menjadi suatu rancangan biomaterial yang banyak dikembangkan saat ini. Polimer natural bersifat meningkatkan biokompatibilitas, sedangkan polimer sintetis mempertahankan integritas struktur dari *scaffold* (Yao *et al.*, 2014).

Rancangan biomaterial *patch* pembuluh darah dalam bentuk *scaffold* yang dapat terdegradasi secara natural, manakala struktur *extracellular matrix* (ECM) sebagai penyokong pembuluh darah telah terbentuk, menjadi fokus pengembangan biomaterial saat ini. *Scaffold* tersebut diharapkan memiliki kemampuan rekayasa jaringan yang memiliki sifat seperti jaringan asalnya dan dapat terdegradasi secara aman di dalam tubuh.

Biokompatibilitas menjadi tolak ukur dari keberhasilan pengembangan suatu biomaterial. Saat ini terjadi perubahan paradigma dari konsep rekayasa biomaterial yang bersifat menghindari sistem imun (*immune evasive*) menjadi biomaterial yang memiliki kemampuan berinteraksi dengan sistem imun (*immune interactive*) (Batool *et al.*, 2021).

Polimer *Poly-L Lactic Acid* (PLLA) adalah suatu poliester sintetis yang banyak digunakan pada pemrosesan obat, pengemas makanan, dan aplikasi rekayasa jaringan. Polimer PLLA mempunyai kelebihan pada kekuatan mekanik, tidak toksik, dapat terurai (*biodegradable*), dan biaya yang relatif murah dalam pengembangannya sehingga memungkinkan hilirisasi untuk produksi secara massal. Pengembangan PLLA sebagai bahan dasar material untuk perbaikan dan rekonstruksi pembuluh darah terkendala pada sifatnya yang hidrofobik. Modifikasi biomaterial secara fisika, kimia, maupun biologi diharapkan mampu meningkatkan kemampuan biokompatibilitasnya (Batool *et al.*, 2021).

Modifikasi biomaterial menggunakan teknik fabrikasi *electrospinning* berperan terhadap modifikasi secara fisika (morfologi), sehingga memungkinkan mendapatkan biomaterial dengan pendekatan rekayasa jaringan (*tissue engineering*) (Mastrullo *et al.*, 2020). Serabut dengan ukuran nano hingga

mikrometer bisa didapatkan dengan melalui proses *electrospinning* ini, sehingga struktur biomaterial akan mempunyai kemiripan sifat dengan matriks ekstraseluler (Yao *et al.*, 2014). Modifikasi secara kimia dengan penambahan kitosan, berperan dalam meningkatkan sifat hidrofilik sehingga biokompatibilitas *scaffold* menjadi lebih baik dan memiliki kemampuan dalam memfasilitasi komunikasi dan interaksi sel (Pavezi *et al.*, 2020). Penyalutan heparin pada *scaffold* berperan dalam meningkatkan sifat biofungsionalisasi dan hemokompatibilitas (Yao *et al.*, 2014).

Pada penelitian ini *scaffold* difabrikasi menggunakan gabungan ketiga bahan yakni PLLA, kitosan dan heparin, dimana hasil rekayasa atau penggabungan bahan ini disebut sebagai komposit. Melalui rekayasa komposit dukungan integritas mekanik dari PLLA berperan dalam mengimbangi tekanan darah, dimana pencampuran kitosan sebagai *filler* dipilih tidak hanya berperan dalam meningkatkan integritas namun juga memberikan dukungan adhesi, proliferasi sel endothel dan endothelialisasi dalam perbaikan jaringan pembuluh darah. Penyalutan heparin pada komposit PLLA-kitosan berperan memberikan dukungan sifat hemokompatibilitas, dimana sifat tersebut krusial pada aplikasi *patch* angioplasti. Peran masing-masing penyusun bahan pada penelitian ini saling diperlukan pada *patch* angioplasti dalam mendukung perbaikan dan rekonstruksi jaringan pembuluh darah.

Kriteria ideal biomaterial *patch* angioplasti yang telah dijelaskan sebelumnya menjadi dasar acuan terhadap evaluasi kandidat biomaterial yang dihasilkan. Pada penelitian ini lima dari tujuh kriteria ideal biomaterial *patch* angioplasti yang disarankan oleh Muto *et al* dievaluasi pada kandidat biomaterial yang dihasilkan, meliputi evaluasi risiko restenosis, sifat mekanik, *comfortable*

handling, ketersediaan, dan risiko menimbulkan respon negatif pada darah (Muto *et al.*, 2009). Kelima evaluasi kandidat ideal biomaterial patch angioplasti ini, dibagi menjadi tiga tahap penelitian.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat perbedaan karakteristik biomaterial *scaffold nanofiber* PLLA, *scaffold nanofiber* komposit PLLA-kitosan dan *scaffold nanofiber* komposit PLLA-kitosan-heparin pada penelitian tahap pertama terhadap karakteristik gugus fungsi, morfologi (diameter fiber dan ukuran pori), *tensile strength* (nilai UTS dan elongasi), persentase hemolisis setelah dipaparkan dengan darah manusia, dan persentase viabilitas sel setelah dipaparkan kultur sel fibroblas *Baby Hamster Kidney* (BHK)-21?
2. Apakah terdapat perbedaan biokompatibilitas *in-vitro scaffold nanofiber* PLLA, *scaffold nanofiber* komposit PLLA-kitosan dan *scaffold nanofiber* komposit PLLA-kitosan-heparin pada penelitian tahap kedua terhadap karakteristik apoptosis dan nekrosis setelah dipaparkan kultur sel progenitor endotel, dan karakteristik sel teradhesi yang mengekspresikan *cluster of differentiation* (CD31) dan *von Willebrand factor* (vWF) setelah ditanamkan kultur sel progenitor endotel?
3. Apakah terdapat perbedaan ekspresi sitokin: interleukin (IL)-1 β , IL-6, dan *tumor necrosis factor* (TNF)- α pada penelitian tahap ketiga terhadap hewan coba yang diimplankan dengan *scaffold nanofiber* PLLA, PLLA-kitosan dan PLLA-kitosan-heparin?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Tujuan penelitian ini adalah mensintesis dan mendapatkan kandidat biomaterial untuk perbaikan dan rekonstruksi jaringan pembuluh darah, yang berasal dari *scaffold nanofiber* PLLA, *scaffold nanofiber* komposit PLLA-kitosan dan *scaffold nanofiber* komposit PLLA-kitosan-heparin.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Menganalisis perbedaan karakteristik biomaterial *scaffold nanofiber* PLLA, *scaffold nanofiber* komposit PLLA-kitosan dan *scaffold nanofiber* komposit PLLA-kitosan-heparin pada penelitian tahap pertama terhadap karakteristik gugus fungsi, morfologi (diameter fiber dan pori), *tensile strength* (nilai UTS dan elongasi), persentase hemolisis setelah dipaparkan dengan darah manusia, dan persentase viabilitas sel setelah dipaparkan kultur sel fibroblas BHK-21.
2. Menganalisis perbedaan biokompatibilitas *in-vitro scaffold nanofiber* PLLA, *scaffold nanofiber* komposit PLLA-kitosan dan *scaffold nanofiber* komposit PLLA-kitosan-heparin pada penelitian tahap kedua terhadap karakteristik apoptosis dan nekrosis setelah dipaparkan kultur sel progenitor endotel dan karakteristik sel teradhesi yang mengekspresikan CD31 dan vWF setelah ditanamkan kultur sel progenitor endotel.
3. Menganalisis perbedaan ekspresi sitokin IL-1 β , IL-6, dan TNF- α pada penelitian tahap ketiga terhadap hewan coba yang diimplankan dengan *scaffold nanofiber* PLLA, komposit PLLA-kitosan dan komposit PLLA-kitosan-heparin.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Memberikan informasi ilmiah tentang sintesis dan perbedaan karakteristik *scaffold nanofiber* PLLA, komposit PLLA-kitosan dan komposit PLLA-kitosan-heparin untuk perbaikan dan rekonstruksi jaringan pembuluh darah.

2. Manfaat praktis

Memodifikasi biomaterial PLLA dengan kitosan dan heparin menggunakan *electrospinning* sebagai biomaterial untuk perbaikan dan rekonstruksi jaringan pembuluh darah.