

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tulang merupakan organ yang memiliki struktur kaku dan keras untuk membentuk rangka pada tubuh. Selain itu, tulang pada manusia juga digunakan sebagai alat gerak pasif sehingga membantu timbulnya gerakan pada tubuh manusia dan sebagai pengungkit bagi otot. Tulang juga berfungsi sebagai pelindung organ vital dan media terjadinya pertumbuhan, mengendalikan homeostatis mineral, asam, dan basa. Banyak sekali kasus *Bone defect* (cacat tulang) yang diderita oleh manusia. *Bone defect* (cacat tulang) banyak terjadi dalam berbagai situasi klinis seperti patah tulang terbuka, trauma, reseksi tumor tulang, dan infeksi dengan debridement pada tulang (Schemitsch, 2017).

Indonesia merupakan negara di Asia Tenggara yang memiliki angka kejadian fraktur terbanyak, yaitu sebesar 1,3 juta jiwa setiap tahunnya dari jumlah penduduknya yang kurang lebih berkisar sekitar 238 juta jiwa, hal ini berdasarkan data yang dihimpun oleh Wrong Diagnosis (Ropyanto *et al.*, 2013). Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 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%. Banyak faktor yang mempengaruhi kejadian patah tulang salah satunya adalah umur. Patah tulang di bawah 17 tahun mencapai 11,4% dibandingkan dengan kelompok umur lainnya. selain umur, data Riskesdas (2018) juga menunjukkan bahwa jenis kelamin dan tempat kejadian memiliki hubungan dengan insiden fraktur tulang, pada laki-laki (6,6%) lebih rentan terhadap fraktur tulang dibanding wanita (4,6%). Insiden fraktur yang terjadi di Bali menurut Rikesdas tahun 2018 mencapai prevalensi 7,5. Berdasarkan data hasil studi pendahuluan di IGD RSD Mangusada Kabupaten Bandung bahwa tahun 2019 kasus ekstremitas bahwa sebanyak 389 kasus, di tahun 2020 kasus fraktur

ekstremitas bahwa sebanyak 356 kasus. Tahun 2021, empat bulan terakhir yaitu bulan Januari sampai dengan bulan April 2021 kasus fraktur ekstremitas bahwa sebanyak 139 kasus. Tulang memiliki peran dan fungsi tulang yang cukup krusial untuk tubuh manusia, oleh sebab itu permasalahan tulang harus segera ditangani untuk mempercepat pertumbuhan dan penyembuhan cacat tulang pada pasien.

Perkembangan metode penyembuhan semakin pesat seiring dengan berkembangnya Ilmu Pengetahuan dan Teknologi (IPTEK) di Indonesia. Hal tersebut ditunjukkan dengan yang mula-mula penyembuhan dilakukan dengan pengobatan secara konvensional memanfaatkan bahan alami seperti daun teh, dupa, anggur, hingga madu telah tergeser secara perlahan dikarenakan adanya metode penyembuhan lainnya yaitu memanfaatkan ilmu rekayasa jaringan. Teknik rekayasa jaringan adalah bidang kajian ilmu interdisipliner yang memanfaatkan biomaterial untuk mengembangkan jaringan bahkan organ buatan sehingga akan memperbaiki, menambah, dan/atau mengganti jaringan yang rusak atau sakit (Birla, 2014). Pasokan yang tak terbatas dan tidak ada transmisi penyakit, rekayasa jaringan dipandang sebagai alternatif potensial untuk perbaikan *bone defect* (Amini *et al.*, 2012). Dalam memperbaiki jaringan pada *bone defect* dapat digunakan metode *bone scaffold* karena pada umumnya metode ini berfungsi sebagai agen regenerasi dan mendukung terjadinya pertumbuhan jaringan (Guo, *et al.*, 2020). Rekayasa jaringan tulang atau *bone tissue engineering* telah banyak digunakan pada penelitian mengenai *bone scaffold* dengan matriks 3D yang disintesis dari beberapa kombinasi bahan biomaterial.

Scaffold yang ideal memiliki beberapa sifat yaitu *biokompatibel* artinya *scaffold* harus non-toksik dan non-inflamasi. *Scaffold* harus memiliki *interconnected porous* guna mengalirkan nutrisi untuk vaskularisasi, sifat mekanik yang memadai sebagai penopang tumbuhnya jaringan baru, dan harus biodegradable sehingga dapat menyediakan ruang untuk sel baru tumbuh (Mondal & Pal, 2019). *bone defect* yang efektif harus memiliki kesamaan fungsi dengan *ekstraseluler* matriks (ECM) dalam menyediakan lingkungan *in vivo* guna memfasilitasi infiltrasi sel, deposisi matriks, perlekatan sel, serta

pertumbuhan dan diferensiasi sel. Selain memfasilitasi dari segi pertumbuhan, *scaffold* juga harus memiliki sifat mekanik yang memadai untuk memberikan dukungan struktural pada jaringan tulang yang baru terbentuk dalam mengisi lesi jaringan dan mendukung transformasi dinamik dalam osteogenesis serta osifikasi. Karakteristik penting yang juga harus dimiliki *bone scaffold* yang ideal antara lain adalah *biokompatibel* agar tidak menimbulkan toksisitas, *injury* dan *immunologic reactions* atau reaksi imun ketika berinteraksi dengan sel dan jaringan hidup. *Scaffold* juga harus terbuat dari bahan *biodegradable* atau *bioresorbable*, agar dapat terdegradasi pada tingkat waktu yang sesuai tanpa menghasilkan produk sampingan yang tidak diinginkan, sehingga jaringan baru terbentuk dan berkembang sepenuhnya sehingga pada akhirnya akan menggantikan *scaffold*. Selain itu *scaffold* harus memiliki luas permukaan area dibanding rasio volume lebih tinggi, porositas tinggi dan terdapat interkoneksi pori untuk mendukung integrasi jaringan dan vaskularisasi (Luthfia Adindya, 2021).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dari Kakiage (2019) menyatakan bahwa *electrospinning* merupakan metode yang efisien untuk sintesis nanofiber keramik. Pembuatan hidroksiapatit menggunakan metode sol-gel untuk menghasilkan struktur yang berpori. Hal ini disebabkan karena dispersi dari partikel sol itu sendiri (Kakiage & Oda, 2019). *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 merupakan suatu proses pembuatan serat nano yang efisien dengan memanfaatkan pengaruh medan listrik dalam menghasilkan

pancaran larutan atau lelehan polimer bermuatan listrik. Serat nano polimer terbentuk karena pada proses tersebut terjadi penguapan pelarut secara simultan. Beberapa keuntungan metode *electrospinning* terletak pada peralatannya yang relatif sederhana dan biayanya yang cukup efisien. Pada prinsipnya mekanisme pembuatan serat dengan *electrospinning* adalah dengan cara mendorong larutan polimer yang diberi tegangan listrik tinggi menggunakan pompa *syringe* hingga membentuk butir/tetes larutan pada ujung *kapiler spinnerete*. Butir/tetes larutan polimer yang telah terinduksi muatan listrik tersebut dibawah pengaruh medan listrik akan meloncat atau bergerak ke arah elektroda dengan muatan berlawanan sambil disertai proses penguapan pelarut polimer, sehingga yang tertinggal pada pelat pengumpul (*collecting plate*) hanya serat polimernya. *Electrospinning* merupakan teknik yang cukup sederhana namun mampu menghasilkan serat nano dengan rentang ukuran paling kecil yakni 0,04 – 2 mikrometer. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dinyatakan bahwa untuk persyaratan minimum ukuran pori dianggap $\sim 100\mu\text{m}$ karena menyesuaikan dengan ukuran sel, persyaratan migrasi dan transport sel. Namun, dianjurkan ukuran pori $> 300\mu\text{m}$ karena meningkatkan pembentukan tulang baru dan pembentukan kapiler (Karageorgion, 2005).

Bahan *scaffold* tulang umumnya menggunakan Hidroksiapatit (HA). Hidroksiapatit adalah komponen anorganik utama penyusun jaringan tulang. Adanya kesamaan struktur kimia dengan mineral jaringan tulang manusia, maka hidroksiapatit sintetik menunjukkan daya afinitasnya dengan baik yaitu dapat berikatan secara kimiawi dengan tulang. Hidroksiapatit adalah keramik bioaktif yang sudah luas penggunaannya dalam aplikasi medis antara lain untuk reparasi tulang yang mengalami kerusakan, pelapisan logam protesa (implan) untuk meningkatkan sifat biologi dan mekanik dan juga sebagai media penghantaran obat (*drug delivery*). Material tersebut berasal dari bahan sintetik non-logam yang bisa didapatkan dari bahan keramik (kalium fosfat), komposit dan polimer.

Hidroksiapatit merupakan salah satu bahan biokeramik dan merupakan komponen utama pembentuk tulang. Hidroksiapatit memiliki kelemahan yakni rapuh, sehingga perlu ditambahkan polimer untuk memperkuat sifat mekaniknya. *Polycaprolactone* (PCL) merupakan jenis polimer yang dapat

digunakan sebagai alternatif untuk scaffold tulang. PCL merupakan polimer alifatik linier yang mempunyai struktur semikristalin, dengan titik leleh rendah ($59-64^{\circ}\text{C}$). Dibutuhkan waktu 2 tahun untuk PCL terdegradasi sepenuhnya (Levdal *et al.*, 2014). *Scaffold* yang difabrikasi dari PCL dapat memberikan ketahanan yang lama pada rekayasa jaringan lunak serta dapat menstimulasi pertumbuhan jaringan di sekitarnya. PCL sudah banyak digunakan dalam upaya perbaikan atau regenerasi jaringan ikat (Gurlek *et al.*, 2016). Hal ini disebabkan karena PCL mempunyai waktu degradasi yang lambat dan memiliki kemampuan untuk membentuk campuran dengan polimer lain (Ge *et al.*, 2006). PCL bersifat hidrofobik, sehingga perlu ditambahkan polimer yang bersifat hidrofilik.

Kolagen sebagai matriks *ekstraseluler* (ECM) telah diterapkan secara luas untuk memfasilitasi pertumbuhan dan diferensiasi sel dalam pembentukan kembali jaringan. Sebagai protein yang paling banyak dijumpai dalam tubuh manusia, kolagen berperan sebagai penyokong fisik pada jaringan dengan menempati ruang antar sel, bertindak tidak hanya sebagai penyokong struktural untuk mengatur sel dalam jaringan ikat, tetapi juga sebagai zat yang bergerak, dinamis, dan fleksibel yang berperan penting terhadap perilaku seluler dan fungsi jaringan (Song *et al.*, 2018). Fabrikasi *elektrospun nanofiber* kolagen/HA untuk *bone scaffold*. Rata-rata diameter *fiber* 461 ± 186 nm. *Scaffold* memicu diferensiasi sel *osteoblast* dengan baik ketika dilakukan uji *in vivo* pada kelinci (Tsai *et al.*, 2020). Fabrikasi *elektrospun nanofiber* PCL/HA untuk *bone scaffold* dengan diameter *fiber* 171 ± 107 nm dan *scaffold* memicu proliferasi sel dengan baik (Stastna *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Luthfia (2021) menyatakan bahwa *Bone scaffold electrospun nanofiber* berbasis Hidroksiapatit-PCL-Kolagen berhasil disintesis dan berdasarkan uji FTIR menunjukkan tidak ada ikatan kimia yang terjadi diantara material; berdasarkan morfologi SEM memiliki diameter *fiber* dibawah 1000nm sehingga sesuai dengan ukuran matriks *ekstraselular*; berdasarkan spektroskopi XRD memiliki sifat kristalinitas yang sesuai untuk menjadi material implant *biodegradable*,

memiliki porositas diatas 85% yang dapat menginisiasi poliferasi; dapat terdegradasi dalam rentang waktu 7-8 bulan sesuai dengan waktu *remodeling* tulang. Berdasarkan hasil uji sitotoksitas MTT Assay diperoleh nilai viabilitas sel diatas 80% dalam hal ini dikategorikan sebagai material tidak toksik. Namun masih terdapat kelemahan pada kekuatan mekanik dengan nilai *tensile strength* dan modulus elastisitas masih dibawah nilai rentang yang ideal untuk tulang karsinoma yaitu 0.1 – 2 GPa sehingga perlu adanya penelitian lebih lanjut. Pada karakterisasi yang dilakukan pada sampel *electrospun nanofiber* variasi komposisi HA/PCL/Kolagen 50:25:25 (Sampel F3) memiliki karakteristik terbaik dan berpotensi sebagai *bone scaffold* untuk penanganan *bone defect* (Luthfia 2021).

Kualitas *scaffold nanofiber* bergantung pula pada beberapa parameter proses *elektrospinning*. Berdasarkan Pham *et al.*, (2006) terdapat beberapa parameter yang harus diperhatikan saat proses *elektrospining*, diantaranya adalah: 1) viskositas larutan (yang dikontrol oleh konsentrasi larutan) adalah sebagai salah satu penentu terbesar dari ukuran dan morfologi serat saat proses memintal. Semakin meningkatnya viskositas larutan maka serat yang dihasilkan seragam dengan sedikit manik – manik. Dalam beberapa kasus, peningkatan konsentrasi larutan polimer juga dapat mempengaruhi tegangan permukaannya. Untuk larutan yang terlalu pekat, tetesan mengering di ujung sebelum jet dapat dimulai sehingga menghambat proses *elektrospining*. Selain viskositas, tegangan permukaan juga mempengaruhi morfologi dan ukuran serat. 2) Meningkatkan konduktivitas pada larutan atau kepadatan muatan dapat digunakan untuk menghasilkan serat yang lebih seragam dengan lebih sedikit manik-manik. Peningkatan konduktivitas ini juga dapat meningkatkan diameter serat. 3) Laju aliran mempengaruhi morfologi dan ukuran serat. Secara umum, jika laju aliran lebih rendah maka serat akan memiliki diameter yang lebih kecil. Namun, jika laju aliran terlalu tinggi maka akan menghasilkan manik-manik karena serat tidak sempat mengering sebelum mencapai *collector*. 4) Pada tegangan yang rendah cairan biasanya ditanggguhkan di ujung jarum, kemudian jet akan menghasilkan pemintalan bebas manik yang berasal dari *taylor cone* (dengan asumsi bahwa gaya medan listrik cukup untuk mengatasi tegangan

permukaan). Saat tegangan dinaikkan, volume cairan yang berada pada ujung jarum berkurang, sehingga *taylor cone* surut. *Jet* akan menghasilkan pemintalan dengan banyak manik - manik. Ketika tegangan dinaikkan lebih lanjut, *jet* akhirnya bergerak di sekitar tepi ujung jarum, dan *taylor cone* tidak terlihat. Pada kondisi ini, manik – manik semakain banyak. 5) Jarak antara ujung *needle* dan *collector* tidak boleh terlalu jauh agar proses penguapan yang membentuk *jet* dapat terbentuk tepat waktu. Namun, jarak antara tip dan *collector* tidak boleh terlalu dekat supaya dapat menghasilkan percikan *jet* antar *elektrode*.

Parameter *electrospinning* mempengaruhi diameter dan morfologi serat. Banyak penelitian yang telah dilakukan mengenai *electrospinning* yang fokus terhadap optimasi parameter, sehingga diperoleh ukuran dan morfologi serat yang bagus. Beberapa penelitian telah dipublikasikan untuk optimasi hasil ukuran dan morfologi serat nano dengan metode *electrospinning*. Pembuatan serat nano (*nanofiber*) menggunakan metode *electrospinning* dengan material polimer polivinil pyrrolidone (PVP) dengan ekstrak daun binahong. Pada penelitian ini digunakan konsentrasi polimer 4%wt dan 8%wt dan jarak *needle* ke *collector* 10 cm dan juga 15 cm. Jarak *needle* ke *collector* tidak terlalu berpengaruh secara signifikan, pada PVP 4% dengan jarak *needle* ke *collector* 10 dan 15 cm masing-masing menghasilkan diameter serat rata-rata sebesar $111,1 \pm 63,8$ nm dan $74,5 \pm 39,7$ nm. Sedangkan pada PVP 8% dengan jarak *needle* ke *collector* 10 dan 15 cm masing-masing menghasilkan diameter serat rata-rata sebesar $460,6 \pm 195,6$ nm dan $313,1 \pm 150,2$ nm. Adanya jarak *needle* ke *collector* yang lebih panjang dapat membuat diameter rata-rata serat yang dihasilkan menurun (Eka Septiana, 2019). Pada penelitian dengan menggunakan metode *elektrospinning*. Pembuatan serat *nanofiber* dengan beberapa variasi asam asetat dengan gelatin. Larutan gelatin dibuat dengan konsentrasi 5 wt% sampai 40 wt%, variasi asam asetat 10%, 15% dan 20%. Proses *elektrospinning* dilakukan pada tegangan 15 kV dan jarak 11 cm antara ujung *needle* ke *collector* pada penelitian ini dihasilkan diameter nanofiber pada konsentrasi gelatin 30 wt% berturut-turut adalah 165 ± 12 nm, 190 ± 31 nm dan 190 ± 23 nm (Ari Setiawan, 2019).

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka dalam skripsi ini akan dikaji pengaruh parameter proses *elektrospinning* yaitu tegangan dan jarak *needle* ke *collector* terhadap karakteristik *fiber* yang yang dihasilkan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh variasi tegangan dan jarak antara *needle* ke *collector* terhadap karakteristik *electrospun nanofiber* berbasis HA/PCL/Kolagen sebagai *bone scaffold* untuk penanganan cacat tulang?
2. Berapakah variasi tegangan dan jarak *needle* ke *collector* terbaik untuk memperoleh *electrospun nanofiber* berbasis HA/PCL/Kolagen dengan karakteristik terbaik sebagai *bone scaffold* untuk penanganan cacat tulang?

1.3 Batasan Masalah

1. Karakterisasi yang dilakukan meliputi uji SEM, XRD, porositas, kuat tarik, dan degradasi.
2. Variasi tegangan dan jarak *needle* ke *collector* yang digunakan pada proses elektrospinning yaitu 5cm;10cm;15cm dan 15kV;20kV;25kV
3. Perbandingan komposisi rasio massa HA/PCL/Kolagen yang digunakan sebesar 50:25:25 (Wt%) (Luthfia 2021).
4. Bone scaffold hasil sintesis dan karakterisasi digunakan untuk penanganan *bone defect* terutama defek pada tulang trabekular.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh variasi tegangan dan jarak *needle* ke *collector* terhadap karakteristik *electrospun nanofiber* berbasis HA/PCL/Kolagen sebagai *bone scaffold* untuk penanganan cacat tulang?
2. Menentukan variasi tegangan dan jarak *needle* ke *collector* terbaik untuk memperoleh *electrospun nanofiber* berbasis HA/PCL/Kolagen dengan karakteristik terbaik sebagai *bone scaffold* untuk penanganan cacat tulang?

1.5 Manfaat Penelitian

1. Memberikan acuan teori tentang sintesis dan karakteristik *nanofiber* HA/PCL/Kolagen sebagai penanganan cacat tulang.

2. Menghasilkan *elektrospun nanofiber* berbasis HA/PCL/Kolagen dengan tegangan dan jarak *needle* ke *collector* terbaik untuk penanganan cacat tulang.