

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Cedera atau luka merupakan suatu kerusakan yang terjadi pada struktur maupun fungsi tubuh yang terjadi akibat paksaan atau tekanan dari fisik maupun kimiawi (Artanayasa, 2014). Salah satu cedera yang paling sering terjadi pada atlet ialah cedera lutut. Kasus cedera lutut yang terjadi di Sekolah Khusus Olahraga mencapai 60% dari semua kasus cedera. Sedangkan dari kasus cedera lutut tersebut 50% nya merupakan kasus cedera lutut ACL (Sayampanathan, 2017). ACL (*Anterior Cruciate Ligament*) merupakan satu dari empat ligamen yang ada di lutut dan paling sering mengalami cedera. Cedera ACL banyak terjadi pada atlet olahraga disertai dengan gejala pembengkakan lutut, ketidak stabilan dan rasa nyeri di sekitarnya. Sebanyak 17% - 61% atlet yang mengalami cedera lutut memerlukan tindakan operasi. Menurut Pusat Statistik Kesehatan Nasional di Amerika Serikat sekitar 350.000 operasi rekonstruktif ACL dilakukan setiap tahun (Nau & Teuschl, 2015).

ACL memiliki respons penyembuhan diri yang sangat buruk setelah cedera. Hal ini dikarenakan ACL dikelilingi oleh lapisan tipis synovial jaringan dalam lingkungan intra-artikular sedemikian rupa sehingga saat jaringan sinovial pecah, ACL akan terkena cairan sinovial, produk pemecahan hemoragik dan enzim proteolitik. Karena lokasinya dan lingkungan vaskular yang terbatas, ACL tidak dapat membentuk jaringan parut dan tidak memiliki respons inflamasi awal sehingga menyebabkan kapasitas penyembuhannya buruk (Xie *et al.*, 2013).

Pengobatan cedera ACL dapat dilakukan dengan bedah perbaikan ACL yang robek dimana memiliki tingkat keberhasilan yang rendah dan dapat menyebabkan kekakuan sendi jangka panjang. Pilihan pengobatan lain yang paling sering digunakan yaitu rekonstruksi atau operasi Anterior Cruciatum Ligament Reconstruction (ACLR), akan tetapi sulit untuk memproduksi biomekanik ACL

sesuai yang diperlukan. Setiap tahun dilakukan 50.000 rekonstruksi ACL dimana 45-50% dari pasien tersebut kemudian akan menyebabkan osteoarthritis (OA) (Xie *et al.*, 2013). Operasi ACLR juga belum maksimal dan masih memiliki beberapa kelemahan dimana material yang paling sering digunakan yaitu material yang berasal dari tubuh sendiri (Autograft) dan material yang berasal dari donor (Allograft) (Freeman *et al.*, 2007). Di dalam kuisioner yang dibuat oleh Rathbone *et al* pada tahun 2012 kepada beberapa dokter bedah ortopedik yang sudah melakukan tindakan ACLR menunjukkan bahwa banyak dokter yang lebih memilih penggunaan teknik rekayasa jaringan dalam meregenasi ACL dibandingkan operasi standar yang dilakukan saat ini. Menurut hasil penelitian oleh Rathbone, penggunaan ligamen sintesis juga memiliki waktu operasi yang lebih cepat karena tidak adanya pengambilan jaringan autogenous (Rathbone *et al.*, 2012). Rekayasa jaringan dengan menggunakan material alami maupun sintetik menawarkan sumber pengganti jaringan yang tidak terbatas (Yates *et al.*, 2012). Menurut Hoyer *et al.* (2014), biomaterial yang digunakan dalam rekonstruksi ACL ini haruslah bersifat biokompatibel serta mempunyai kekuatan dan daya tahan terhadap pengaruh mekanik yang tinggi. Sifat lain seperti biodegradabel juga semakin dipertimbangkan dalam rekonstruksi ACL karena degradasinya dapat berjalan seiring dengan regenerasi dari jaringan asli.

Polimer sintetik untuk bersifat biodegradabel harus memenuhi beberapa persyaratan dalam hal biokompatibilitas. Hal ini disebabkan karena adanya potensi toksik saat proses degradasi dari polimer tersebut, misalnya dari monomer, stabilisator, ataupun pelarutnya. Oleh karena itu, harus dipastikan bahwa semua komponen dari polimer tersebut aman bagi tubuh (Buschmann *et al.*, 2017). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ge *et al*, pada tahun 2006, PLA mempunyai waktu degradasi yang lebih lama yaitu 10 bulan sampai 4 tahun (Ge *et al.*, 2006) dibandingkan dengan PLGA yang terdegradasi dalam waktu 4 minggu (Buschmann *et al.*, 2017). Selain itu, PLA tidak menyebabkan foreign body reaction yang permanen tidak seperti jenis polimer yang lain (Freeman *et al*, 2007). PLA memiliki 2 macam bentuk, poly (L-lactic acid) (PLLA) dan poly (D-lactic acid)

IR – PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

(PDLA). Bentuk PLLA merupakan bentuk yang lebih sering digunakan dibandingkan dengan PDLA dalam bidang medis. PLLA mempunyai struktur semikristalin sehingga sering digunakan dalam aplikasi ortopedik karena mempunyai kekuatan mekanik dan ketangguhan yang baik (Buschmann *et al*, 2017). Kolagen dan PLLA merupakan material yang paling sering digunakan dalam penelitian tentang ACLR. Akan tetapi berdasarkan uji kekuatan mekanik, nilai Ultimate Tensile Strength (UTS) dari kedua material tersebut hanya berkisar 7 - 8 MPa di mana tidak mencapai 20% dari nilai UTS ACL asli manusia (Ge *et al.*, 2006). Jenis polimer selain PLLA yang digunakan untuk rekonstruksi ACL adalah polycaprolactone (PCL). PCL memiliki struktur semikristalin dengan titik leleh rendah (59 - 64°C). PCL memiliki permeabilitas tinggi serta memiliki sifat non toksik (Buschmann *et al*, 2017). Dibutuhkan waktu 2 tahun untuk PCL terdegradasi sepenuhnya (Darling *et al.*, 2004). *Scaffolds* yang difabrikasi dari PCL dapat memberikan ketahanan yang lama pada rekayasa jaringan lunak serta dapat menstimulasi pertumbuhan jaringan di sekitarnya. PCL memiliki partikel yang mampu membentuk campuran dengan polimer lain (Ge *et al*, 2006). Pada kasus cedera ACL derajat ketiga yaitu ligament robek sepenuhnya, diperlukan material yang mampu menggantikan fungsi dari ACL bukan hanya sebagai fiksasi. Oleh sebab itu, PCL yang memiliki waktu degradasi yang cukup lama mampu menjadi material sesuai untuk rekonstruksi ACL. PCL juga memiliki biokompatibilitas dan sifat mekanik yang baik. Akan tetapi PCL bersifat hidrofobik sehingga perlu ditambahkan material lain untuk menutupi sifat tersebut. Komponen utama yang sering ditemukan dalam *extra cellular matrix* (ECM) adalah kolagen tipe I yang paling berlimpah dan elastin (Aguirre-Chagala *et al.*, 2017).

Upaya untuk membuat *fiber* yang dapat menyerupai ACL manusia asli dengan derajat kemiripan yang tinggi maka digunakan paduan polimer PCL dengan kolagen dan elastin yang diharapkan dapat menyerupai ECM. Penggunaan kolagen dapat menyediakan kekuatan dan sanggahan struktural untuk jaringan dan sel sekitar. Kolagen berperan sebagai pemberi sinyal untuk pertumbuhan sel endothelial yang memiliki kemampuan untuk memodifikasi respon host. Elastin

IR – PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

merupakan komponen penting setelah kolagen. Elastin memberikan elastisitas dan ketangguhan. Penggunaan material berbasis kolagen telah banyak digunakan dalam beberapa aplikasi biomedis seperti vascular graft, sedangkan material berbasis elastin masih belum banyak dipelajari, maka dari itu dilakukan penelitian menggunakan PCL, kolagen, dan elastin sebagai bahan utama agar dapat memberikan kontribusi pada bidang biomedis (Aguirre-Chagala *et al.*, 2017).

Pembuatan *nanofiber* mampu menghasilkan struktur yang sesuai untuk meniru, menciptakan dan mengatur beberapa fungsi ECM. *Nanofiber* mampu membentuk permukaan yang mempercepat terjadinya pertumbuhan sel epitel, endotel dan diferensiasi seluler (Aguirre-Chagala *et al.*, 2017). Untuk membentuk *nanofiber* yang sesuai dengan struktur ACL yang tersusun oleh pita serat kolagen yang padat, digunakan metode elektrospinning. Serat yang dihasilkan dapat berasal dari penggabungan beberapa material yang telah disintesis terlebih dahulu dan disesuaikan dengan beberapa parameter yang berperan penting dalam proses elektrospinning...

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Aguirre *et al.* pada tahun 2017 diteliti sifat *physicochemical* dari *nanofiber polycaprolactone* / kolagen / elastin yang dibuat menggunakan *elektrospinning*. Diteliti dengan menerapkan berbagai macam konsentrasi sehingga diperoleh beragam struktur nano dengan diameter antara 310 hingga 693 nm dan nilai modulus elastisitas antara 0,5 - 3,04 GPa. Diperoleh *fiber* aPCL6CE dengan rasio konsentrasi PCL/Col/E adalah 64:18:18 menunjukkan sifat mekanik yang sesuai untuk aplikasi rekayasa jaringan *scaffold* tendon, ligamen, *cartilage* dan tulang. Diperoleh diameter *fiber* rata-rata 397 nm, sudut kontak 17°, dan modulus elastisitas sebesar 0,5 GPa (Aguirre-Chagala *et al.*, 2017). Penelitian ini menjadi landasan dipilihnya material berbasis PCL, kolagen dan elastin sebagai bahan *nanofiber scaffold* ACL. Peningkatan konsentrasi kolagen dan elastin diharapkan mampu sedikit menurunkan nilai kuat tarik dari sampel yang dihasilkan.

IR – PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Terdapat 3 macam parameter penting pada proses elektrospinning. Pertama, parameter proses elektrospinningnya yang terdiri dari tegangan yang diterapkan, jarak antara jarum ke kolektor, laju aliran, dan jenis kolektor. Kedua, parameter larutan yang akan dielektrospinning dan terakhir parameter *ambient* (lingkungan). Parameter-parameter tersebut akan mempengaruhi fabrikasi *nanofibers*. Pada penelitian ini berfokus pada parameter proses yaitu tegangan yang diterapkan dan jarak antara jarum ke kolektor.

Pada penelitian Abdel Tawwab *et al.* tahun 2019 diteliti pengaruh perbedaan parameter elektrospinning dari *nanofiber* berbasis *polycaprolacton*/gelatin. Dianalisis beberapa parameter yang dihasilkan dari perbedaan konsentrasi, tegangan, jarak antar jarum ke kolektor, rasio pelarut, dan kelembaban lingkungan. Hasil konsentrasi optimum terdapat pada konsentrasi 18% wt PCL/gelatin (Abdel Tawwab *et al.*, 2019). Pada penelitian ini diamati variasi tegangan dari 9 hingga 20 kV dengan variable kontrol berupa jarak jarum ke kolektor 12 cm dan rasio pelarut AA/FA 9:1. Hasil penelitiannya menunjukkan pada tegangan terendah yaitu 9 kV aliran jet pecah dan menjadi *droplet* (tetesan) sehingga tidak terbentuk *fiber* di kolektor. Kemudian terjadi tegangan kritis pada 10 kV dengan mulai terbentuk *fiber* namun terdapat *beads*. Peningkatan tegangan hingga 15 kV menyebabkan peningkatan lama peregang jet *beads* lebih sedikit dan ukuran *fiber* lebih kecil. Pada tegangan 18 kV terbentuknya *nanofiber* yang halus tanpa *beads*. Namun saat tegangan dinaikkan hingga 20kV dihasilkan ukuran diameter *fiber* besar dengan *beads* akibat waktu terbang jet yang lebih sedikit sehingga tidak meregang sebelum mencapai kolektor. Semakin tinggi tegangan mampu meningkatkan kecepatan jet sehingga waktu terbangnya lebih sedikit untuk meregang hingga terbentuk serat halus menghasilkan diameter yang lebih besar (Abdel Tawwab *et al.*, 2019).

Selain tegangan dianalisis juga variasi jarak jarum ke kolektor yaitu antara 10 sampai 20 cm. Penelitian ini menunjukkan pada jarak dibawah 10 cm terbentuk *fused fiber* atau *fiber* yang menyatu akibat pelarut tidak cukup menguap sebelum sampai ke kolektor. Pada jarak 10 cm dihasilkan *fiber* tanpa *beads* dengan orientasi

IR – PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

yang tidak seragam. Saat jarak 12 cm terbentuk diameter yang semakin kecil karena jet memiliki waktu yang banyak untuk menguap sehingga terbentuk untaian *fiber* kering pada kolektor. Jarak ini merupakan jarak optimal dengan hasil *fiber* tanpa *beads* dan seragam. Peningkatan jarak 15 cm menghasilkan peningkatan diameter akibat berkurangnya medan elektrostatis dimana *fiber* hanya meregang sebentar dan menghasilkan diameter yang lebih besar dengan *fiber* tidak seragam dan diameter yang sedikit lebih kecil. Kenaikan jarak hingga 20 cm menyebabkan terbentuknya *beads* dengan diameter yang lebih membesar. Dari penelitian ini disimpulkan bahwa semakin kecil jarak yang diatur menghasilkan ukuran diameter *fiber* yang lebih kecil. Sedangkan bila jarak terlalu panjang maka medan elektrik akan tereduksi sehingga terbentuk *fiber* tidak seragam dengan *beads*. Diperoleh bahwa medan listrik berbanding terbalik dengan jarak sedangkan laju penguapan pelarut berbanding lurus dengan jarak (Abdel Tawwab *et al.*, 2019).

Pada penelitian ini digunakan variasi parameter tegangan dan jarak jarum ke kolektor untuk menghasilkan *nanofiber* dengan diameter yang lebih kecil dan memiliki orientasi *fiber* yang seragam. Oleh sebab itu diberikan variasi tegangan dan jarak yang lebih besar bila dibandingkan pada penelitian Aguirre Chagala untuk menghasilkan diameter *fiber* yang lebih kecil. Hasil dari sampel tersebut kemudian dikarakterisasi dengan menggunakan beberapa pengujian. Pengujian tersebut terdiri dari uji gugus fungsi dari sampel dengan menggunakan uji *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR), uji tarik untuk mengetahui kekuatan mekanik bahan dan sejauh mana bahan akan mengalami deformasi sebelum pada akhirnya mengalami fraktur, uji morfologi permukaan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM), uji sudut kontak untuk mengetahui sifat hidrofilisitas dari sampel, uji degradasi dengan larutan PBS dan uji sitotoksitas dengan MTT assay. Uji Tarik dilakukan untuk memastikan apakah dapat ditemukan nilai Ultimate Tensile Strength (UTS) yang sesuai dengan nilai ACL yang sebenarnya diaman pada laki-laki adalah 16,3 – 36,4 MPa dan pada perempuan adalah 13,7 – 31,5 MPa. Sedangkan nilai Modulus Young pada laki-laki antara 93 – 163 MPa dan pada perempuan adalah 49 – 149 MPa (Vierra *et al.*, 2009),

Komposisi bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari *polycaprolactone* (PCL), kolagen (Col), dan elastin (E) atau disebut PCL/Col/E dengan rasio 50:25:25 wt% dan variasi parameter elektrospinning yaitu tegangan 25 kV, 27 kV, dan 29 kV serta variasi jarak antara jarum ke kolektor adalah 6 cm, 10 cm, dan 14 cm. Penelitian ini berbeda dari penelitian sebelumnya dengan harapan akan dihasilkan inovasi pemberian variasi parameter pada proses elektrospinning dalam pembuatan *scaffold nanofiber* untuk cedera ACL sehingga diperoleh kualitas terbaik ditinjau dari hasil karakterisasi morfologi, sifat kimia, sifat mekanik, biokompatibilitas dan laju degradasinya.

1.2. Rumusan Masalah

Dari ulasan latar belakang tersebut, maka dapat ditarik perumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh variasi parameter proses elektrospinning pada pembuatan *scaffold nanofiber* berbasis PCL/Col/E berdasarkan hasil karakteristik uji FTIR, uji SEM, uji tarik, uji sudut kontak, uji porositas, uji degradasi, dan uji sitotoksitas?
2. Berapakah tegangan dan jarak antar jarum ke kolektor yang mampu memberikan nilai optimal dalam pembuatan *scaffold nanofiber* PCL/Col/E untuk mengatasi cedera *Anterior Cruciate Ligament* (ACL)?

1.3. Batasan Masalah

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka dibuat batasan masalah untuk penelitian, yaitu:

1. Pada penelitian ini bahan yang digunakan adalah *polycaprolactone* (PCL), kolagen (Col), dan Elastin (E) sebagai material penyusun utama *scaffold*.
2. Komposisi bahan yang digunakan tetap yaitu PCL/Col/E (50:25:25) wt%
3. Elektrospinning digunakan sebagai metode pembentukan *nanofiber*.

4. Variasi parameter proses elektrosinning yang diterapkan adalah pada tegangan yaitu 25 kV, 27 kV, dan 29 kV serta jarak antara jarum ke kolektor yaitu 6 cm, 10 cm, dan 14 cm.
5. Karakterisasi yang dilakukan meliputi uji gugus fungsi dengan FTIR, uji morfologi dengan SEM, uji sudut kontak, uji porositas, uji tarik, uji degradasi dengan larutan PBS dan uji sitotoksitas dengan *MTT assay*.

1.4. Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan data pengaruh variasi parameter proses elektrosinning pada pembuatan *scaffold nanofiber* berbasis PCL/Col/E berdasarkan karakteristik uji FTIR, morfologi dengan SEM, uji tarik, sudut kontak, uji degradasi, dan uji sitotoksitas dengan MTT Assay.
2. Mendapatkan parameter proses elektrosinning yang mampu memberikan nilai optimal dalam pembuatan *scaffold nanofiber* PCL/Col/E untuk mengatasi cedera *Anterior Cruciate Ligament* (ACL).

1.5. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan tentang pengaruh variasi parameter proses elektrosinning pada pembuatan *scaffold nanofiber* berbasis PCL/Col/E.

2. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan menghasilkan *scaffold nanofiber* berbasis PCL/Col/E yang berpotensi untuk mengatasi cedera *Anterior Cruciate Ligament* (ACL).