

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cedera meniskus terjadi pada berbagai jenis olahraga namun, risiko paling tinggi terjadi pada olahraga sepak bola, *soccer*, bola basket, dan gulat. Kegiatan ini membutuhkan gerakan berputar serta perubahan arah yang cepat dan tidak terduga sehingga memungkinkan cedera meniskus lebih besar (Mitchell *et al.*, 2016). Kondisi patologis, seperti robekan *anterior cruciate ligament* (ACL) dan fraktur lempeng tibialis juga berhubungan erat dengan cedera meniskus. Pada fraktur lempeng tibialis, 57% hingga 80% pasien mengalami cedera meniskus (Stahl *et al.*, 2015), sedangkan 88% pasien yang mengalami cedera meniskus diakibatkan oleh robeknya ACL (Kluczynski *et al.*, 2013).

Meniskus lutut merupakan jaringan fibrokartilago yang terdiri dari komponen medial dan lateral, terletak di antara kondilus femoralis dan lempeng tibialis. Meniskus memiliki karakteristik berbentuk semilunar atau bulan sabit, dengan permukaan superior yang tampak cekung dan permukaan inferior yang datar serta jaringan kompleks yang berwarna putih mengkilap. Meniskus memiliki fungsi serta peranan penting yaitu mempertahankan keselarasan dinamis antara kondilus femoralis dan lempeng tibialis, sebagai bantalan penahan beban yang melindungi jaringan osteokondral pada permukaan femoralis dan tibialis, peredam guncangan, mentransmisikan 50-85% beban gaya tekan sendi lutut, stabilisasi sendi, pelumas sendi, melindungi dan menutrisi artikular kartilago (Fox *et al.*, 2015). Meniskus rentan terhadap robekan dan cedera akibat olahraga yang tidak tepat, trauma, dan degenerasi terkait usia. Cedera meniskus yang tidak segera ditangani dapat mengakibatkan tidak berfungsinya meniskus dalam jangka panjang, degeneratif sendi, serta meningkatkan risiko osteoarthritis lutut, yang diikuti oleh rasa sakit berlebihan dan ketidaknyamanan yang cukup besar (Englund *et al.*, 2012).

Insiden cedera meniskus berkisar antara 66 hingga 70 per 100.000 kasus tiap tahunnya yang terjadi di Amerika Serikat serta 8,27 per 1000 kasus tiap tahun yang terjadi pada usia muda dan aktif (Jones *et al.*, 2012). Cedera meniskus

traumatis sering terjadi pada atlet, dengan insiden 5,1 per 100.000 orang di Amerika Serikat (Mitchell *et al.*, 2016). Berdasarkan faktor usia, pasien yang berusia 18 hingga 39 tahun memiliki prevalensi mengalami robek meniskus sebesar 5,6% sedangkan pasien berusia 50 hingga 90 tahun memiliki prevalensi robek meniskus sebesar 31% (Achtnich *et al.*, 2018). Secara keseluruhan, tingkat cedera meniskus sedikit lebih tinggi pada atlet pria dengan angka insiden sebesar 0,68 per 10.000 dibandingkan 0,53 per 10.000 pada atlet wanita. Angka kejadian cedera meniskus pada anggota militer pria adalah 20% lebih tinggi dibanding anggota militer wanita (Jones *et al.*, 2012). Di Indonesia sendiri angka kejadian robek meniskus belum terdata secara pasti. Menurut data *sport clinic* RSUD Soetomo kasus cedera meniskus mencapai 31 kasus atau 34,44% dalam kurun waktu juli 2010-juni 2011 (RSUD Soetomo, 2012). Riset Kesehatan Dasar Nasional tahun 2018 melaporkan bahwa prevalensi penyakit sendi di Indonesia berdasarkan diagnosis dokter pada penduduk umur ≥ 15 tahun mencapai 7,3% (Riskesdas, 2018).

Penanganan cedera meniskus telah dikembangkan hingga saat ini namun belum ditemukan metode yang efektif untuk mengatasi cedera robek meniskus. Penanganan cedera robek meniskus hingga saat ini hanya berhasil pada bagian meniskus yang tervaskularisasi yaitu pada bagian perifer yang merupakan 1/3 bagian terluar dari meniskus. Perbaikan dengan metode penjahitan adalah strategi terapi utama pada cedera meniskus ini, karena pada bagian tersebut meniskus masih dapat beregenerasi dan melakukan pemulihan dengan sendirinya. Cedera robek meniskus juga banyak terjadi pada 2/3 bagian dalam yang merupakan zona *avascular* dari meniskus. Pada bagian ini meniskus sulit untuk pulih melalui regenerasi diri karena kekurangan pembuluh darah, selain itu gangguan penyembuhan pada bagian ini juga disertai dengan pembentukan jaringan fibrosa dengan sifat mekanik rendah. Oleh karena itu, upaya untuk mendukung regenerasi pada bagian meniskus yang tidak tervaskularisasi masih menjadi tantangan hingga saat ini (Chahla *et al.*, 2017).

Penanganan yang dapat dilakukan untuk cedera robek meniskus pada bagian dalam zona *avascular* adalah dengan menisektomi. Menisektomi adalah operasi pengangkatan seluruh atau sebagian meniskus yang robek. Menisektomi

total dilakukan untuk mengangkat seluruh meniskus. Sedangkan menisektomi parsial, mengangkat meniskus sesedikit mungkin dan menghilangkan fragmen meniskus yang tidak stabil. Proses pembedahan didasarkan pada kemampuan meniskus untuk sembuh; lokasi, panjang, pola, ukuran, dan stabilitas robekan; kondisi seluruh meniskus; serta usia dan tingkat aktivitas (Jeong *et al.*, 2012). Prosedur menisektomi ini masih meninggalkan segudang permasalahan. Menisektomi parsial telah menunjukkan efek dari kapasitas penyembuhan yang buruk dan meningkatkan risiko perkembangan osteoarthritis (Hasan *et al.*, 2014). Reseksi parsial meniskus menghasilkan mobilitas abnormal dari kondilus lateral sehingga mengakibatkan degenerasi tulang rawan. Selain itu menisektomi parsial juga menurunkan area kontak tibiofemoral dan meningkatkan tekanan kontak (Murakami *et al.*, 2018). Menisektomi total biasanya dilakukan dengan proses alotransplantasi, namun alotransplantasi memiliki kekurangan seperti keterbatasan ketersediaan, risiko penularan penyakit, *immunorejection* (penolakan sistem kekebalan tubuh pasien penerima), ketidakcocokan anatomis, sulit menyesuaikan ukuran, serta penurunan kekuatan biomekanis akibat sterilisasi, proses penyimpanan dan pengawetan (Smith *et al.*, 2015).

Kurangnya vaskularisasi, sel, matriks ekstraseluler kompleks (ECM), adanya sitokin inflamasi, serta stres mekanis terus menerus berkontribusi pada rendahnya kemampuan penyembuhan dan perbaikan meniskus manusia (Mauck & Burdick, 2015). Saat ini, metode rekayasa jaringan telah digunakan dan terus dikembangkan dalam regenerasi meniskus serta menunjukkan hasil yang menjanjikan. *Scaffold* sebagai metode rekayasa jaringan untuk menyembuhkan cedera meniskus memainkan peran penting dalam penghantaran obat, faktor pertumbuhan, serta menyediakan lingkungan mikro bagi sel sehingga mampu menjalankan fungsinya seperti migrasi, proliferasi dan integrasi. Sumber material *scaffold* sebagai rekayasa jaringan meniskus dapat diklasifikasikan menjadi empat kelompok: polimer sintesis yang terdegradasi, makromolekul alami (termasuk matriks dan polimer alami), jaringan deselular, dan kombinasinya (Gao *et al.*, 2018).

Saat ini terdapat tiga *scaffold* meniskus yang tersedia secara komersial yaitu Collagen Meniscus Implant (CMI®), Actift® dan NUsurface®. CMI terbuat dari serat kolagen tipe I dari tendon sapi *Achilles* yang dilengkapi dengan (glikosaminoglikan) GAG. Hasil uji klinis menunjukkan bahwa hanya pasien kronis yang mendapat perbaikan hasil klinis sedangkan pada pasien akut tidak mendapat perbaikan setelah lima tahun tindak lanjut klinis. Produk komersial CMI tidak memperhatikan aspek kekuatan mekanis. Pada uji klinis CMI telah dilaporkan memiliki kelemahan runtuh (*collapse*) atau menyusut (*shrink*) (Zaffagnini *et al.*, 2015). Produk komersial Actift terbuat dari bahan polimer *polyurethane polyester-urethane* juga dilaporkan mengalami permasalahan setelah aplikasi. Pada uji klinis, osteoarthritis lutut tidak menunjukkan perkembangan, namun sinyal edema dari jaringan fibrokartilago yang terdiferensiasi terdeteksi oleh MRI selama 19 bulan pengamatan pasca operasi (Spencer *et al.*, 2012). Actift telah menunjukkan ketahanan yang buruk dengan 36,4% membutuhkan penghapusan dalam uji klinis baru-baru ini. Selain itu produk komersial Actift dilaporkan menghasilkan sebagian besar jaringan parut dan mengalami efusi. Sama halnya seperti Actift, produk komersial NUSurface yang terbuat dari polikarbonat-uretan juga dilaporkan mengalami penghapusan. Pada masa tindak lanjut, 19 dari 41 meniskus implan telah dihapus dalam jangka pemakaian 2 hingga 26 bulan dengan alasan kegagalan yaitu robekan radial, pecahnya meniskus, dislokasi dengan atau tanpa robekan, sinovitis, tekanan medial, rasa nyeri terus menerus serta perkembangan osteoarthritis yang meningkat. Selain itu, terjadi komplikasi seperti peradangan, efusi, dan menyusut (Straeten *et al.*, 2016).

Secara umum, kapasitas biomekanik dan biokompatibilitas memainkan peran penting dalam fabrikasi *scaffold* meniskus. Hidrogel telah dikembangkan sebagai pengganti meniskus karena sifat fisikokimia yang mirip dengan jaringan lunak (Yang *et al.*, 2020). Hidrogel merupakan jaringan polimer yang sangat terhidrasi, disukai oleh sel karena dapat meniru matriks ekstraseluler (ECM) serta mendukung perlekatan, proliferasi, dan diferensiasi sel (Zhang *et al.*, 2018). Selain itu, hidrogel merupakan pilihan terbaik untuk regenerasi tulang rawan melalui pengenalan kondrosit yang memungkinkan transfer nutrisi dan molekul biologis

(Park *et al.*, 2014). Namun, Hidrogel belum dapat memperhatikan aspek *biomimetic* dari meniskus asli sehingga sulit dibuat menjadi implan meniskus *biomimetic* (Yang *et al.*, 2021). Hidrogel juga memiliki ketahanan mekanis yang rendah dan memungkinkan respon *immunogenic* (Lamparelli *et al.*, 2021). Pencetakan 3D adalah teknik yang menguntungkan karena memungkinkan pembuatan *scaffold* yang mereplikasi bentuk meniskus asli (*biomimetic*) serta spesifik untuk pasien tertentu (Szojka *et al.*, 2017). *Scaffold* 3D menyediakan pori yang mendukung migrasi, proliferasi, dan diferensiasi sel endogen menjadi fenotipe dalam pembentukan neo-meniskus (Li, Y *et al.*, 2020). Penelitian yang dilakukan oleh Bahcecioglu *et al* (2019) membuat *scaffold* meniskus dengan menggunakan *polycaprolactone* (PCL) yang dicetak 3D kemudian dilapisi hidrogel agarosa dan gelatin metakrilat, menunjukkan sifat mekanik yang sesuai, viabilitas sel yang tinggi, dan komposisi biokimia yang sangat mirip dengan meniskus. Daly *et al* (2016) juga mensintesis hidrogel yang terbalut pada *scaffold* PCL yang tercetak 3D sebagai pengganti fibrokartilago dan kartilago hialin, menunjukkan viabilitas sel yang tinggi, modulus tekan massal yang sebanding dengan tulang rawan artikular, serta mendukung perkembangan fibrokartilago dan kartilago hialin.

Silk Fibroin (SF) telah banyak digunakan untuk aplikasi rekayasa jaringan pada perbaikan meniskus karena sifat mekanik yang baik, biokompatibilitas yang mendukung infiltrasi dan proliferasi sel, *resorbable*, imunogenisitas yang rendah serta kemudahan dalam proses sintesis (Konwarh *et al.*, 2017). Namun sifat biomekanik SF jauh lebih rendah dibandingkan meniskus asli. Selain itu polimer alami seperti *silk fibroin* umumnya memiliki laju degradasi yang lebih cepat dibandingkan polimer sintesis. Oleh karena itu biodegradabilitas dan sifat mekanik SF dapat diatur menggunakan polimer sintesis seperti PCL (Li, Z *et al.*, 2020). PCL adalah polimer *biodegradable*, *biocompatible* dan sifat mekanik yang baik, yang sering dimanfaatkan untuk membuat *scaffold* dalam rekayasa jaringan. Selain itu hasil degradasi dari PCL tidak berbahaya bagi sendi lutut (Abedalwafa *et al.*, 2012). Degradasi yang lambat pada *scaffold* PCL dapat menahan dukungan biomekanik selama periode pertumbuhan dan *remodeling* jaringan (Li, Z *et al.*, 2020). *Scaffold* PCL telah dilaporkan dapat meningkatkan regenerasi meniskus lutut (Zhang *et al.*,

2016). Li, Z *et al* (2020) menerangkan bahwa penambahan SF yang bersifat elastis pada *scaffold* PCL dapat meningkatkan kapasitas penyerapan guncangan dan mengurangi gaya gesekan antarmuka antara *scaffold* dan tulang rawan artikular. *Chitosan* (CS) merupakan polimer alami yang memiliki sifat sitokompatibilitas dan histokompatibilitas yang baik serta dapat terdegradasi secara *in vivo*. Thunsiri *et al* (2018) mengemukakan bahwa biokomposit *silk fibroin* (SF) dan *chitosan* (CS) menghadirkan kemampuan tertinggi dalam proliferasi dan viabilitas sel tulang rawan. Hidrogel CS ditemukan dapat memperbaiki defek tulang rawan artikular dengan merangsang kondrogenesis (Choi *et al.*, 2015). Hidrogel CS juga dilaporkan dapat mendorong pembentukan tulang serta regenerasi antarmuka dari tulang rawan dan tulang (Yoon *et al.*, 2018).

Bahcecioglu *et al* (2019) melakukan penelitian mengenai *scaffold* meniskus berbahan PCL yang dicetak 3D, yang bermuatan hidrogel agarosa dan gelatin metakrilat (GelMA). Hasilnya menunjukkan hidrogel yang dilapisi pada *scaffold* 3D PCL dapat melindungi tulang rawan hialin terhadap kerusakan mekanis pada pembebanan dinamis serta meningkatkan produksi ECM secara signifikan dibandingkan dengan *scaffold* PCL tanpa muatan hidrogel. Namun pada penelitian ini proliferasi sel pada *scaffold* 3D PCL (kontrol) setelah 4 minggu kultur lebih tinggi dibandingkan viabilitas sel yang dihasilkan pada *scaffold* 3D PCL yang bermuatan hidrogel agarosa dan GelMA (perlakuan). *Scaffold* meniskus tercetak 3D bermuatan hidrogel memiliki potensi sebagai kandidat *scaffold* pengganti meniskus total. Oleh sebab itu perlu adanya optimasi komposisi hidrogel guna meningkatkan viabilitas sel.

Li, Y *et al* (2021) melakukan penelitian mengenai sintesis hidrogel *silk fibroin* (SF) yang digabungkan dengan nanopartikel *chitosan* (CS) pada aplikasi perbaikan *articular cartilage*. Hidrogel disintesis menggunakan TGF- β 1@CS dan BMP-2@SF dengan rasio volume 1:20, 1:10, 3:20, dan 1:5 dengan metode *crosslinking* yang diinduksi *ultrasound*. Hasil sintesis menunjukkan sampel memiliki biokompatibilitas yang baik, terjadi peningkatan viabilitas sel dan pengurangan defek tulang rawan yang menunjukkan tingkat kemampuan

khondrogenik yang baik. Namun pada penelitian ini tidak dilakukannya uji kekuatan mekanik yang merupakan uji penting pada performa meniskus.

Berdasarkan latar belakang tersebut, diperlukan adanya pengembangan dari penelitian Bahcecioglu *et al* (2019) dan Li, Y *et al* (2021). Perbedaan penelitian ini dengan penelitian Bahcecioglu *et al* (2019) adalah jenis hidrogel yang dimuatkan. Dimana pada penelitian ini memuatkan hidrogel *silk fibroin/chitosan*. Penelitian ini merupakan pengembangan dari penelitian Li, Y *et al* (2021). dimana perbedaan terletak pada sintesis sediaan sampel dan penambahan uji berupa uji kekuatan mekanik (uji kuat tekan dan kuat tarik). Sintesis hidrogel pada penelitian Li, Y *et al* (2021) menggunakan metode *ultrasound-induced crosslinking* sedangkan pada penelitian ini menggunakan metode *chemical gelation* dengan bantuan bahan Natrium-*Carboxymethylcellulose*. Selain itu pada penelitian ini juga dilakukan uji kekuatan mekanik berupa uji kuat tekan dan uji kuat tarik untuk melihat nilai modulus dari *scaffold* yang dibuat.

Variasi kelompok penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah perbedaan rasio volume SF:CS sebesar 1:10, 3:20, dan 2:10. Sediaan sampel dibuat dalam bentuk *scaffold* 3D *Printing* yang dilapisi hidrogel, dimana proses pembentukan 3D *printing* menggunakan metode *fused deposition modelling* serta pembentukan hidrogel yang dilakukan melalui metode *chemical gelation*. Adapun karakterisasi yang dilakukan yaitu uji gugus fungsi dengan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR) untuk mengetahui gugus fungsi dari hasil sintesis *scaffold* 3D hidrogel, uji *Scanning Electron Microscope* (SEM) untuk mengobservasi morfologi dan mikroarsitektur hidrogel, uji sitotoksitas MTT *assay* dilakukan untuk mengetahui tingkat keamanan sampel terhadap sel dan jaringan tubuh, uji kekuatan mekanik (kuat tarik dan kuat tekan) digunakan untuk mengetahui modulus sampel yaitu aspek kekakuan dan sifat elastisitas sampel, uji *swelling* digunakan untuk mengetahui daya penyerapan cairan tubuh oleh hidrogel, serta uji degradasi untuk mengetahui waktu peluruhan sampel yang sejalan dengan proses penyembuhan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana hasil sintesis *scaffold* 3D *printing polycaprolactone* hidrogel *silk fibroin-chitosan* sebagai penanganan defek meniskus lutut?

2. Bagaimana hasil uji *in vitro scaffold 3D printing polycaprolactone* hidrogel *silk fibroin-chitosan* sebagai penanganan defek meniskus lutut pada uji gugus fungsi dengan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR), uji morfologi *Scanning Electron Microscope* (SEM), uji sitotoksitas MTT *assay*, uji kuat tarik, uji kuat tekan, uji *swelling*, dan uji degradasi?
3. Berapakah komposisi optimal variasi rasio volume *silk fibroin-chitosan* yang digunakan pada proses sintesis *scaffold 3D printing polycaprolactone* hidrogel *silk fibroin-chitosan* sebagai penanganan defek meniskus lutut?

1.3 Batasan Masalah

1. Konsentrasi *chitosan* yang digunakan 1,5% w/v dan konsentrasi Na-CMC (natrium *carboxymethylcellulose*) 3% yang berasal dari Sigma Aldrich, konsentrasi *silk fibroin* yang digunakan 2% w/v, kokon sutera (*Bombyx morii* berasal dari CV. Wisata Ilmu Sutera, Bandung, Indonesia).
2. Variasi kelompok penelitian yang digunakan adalah variasi rasio volume SF:CS sebesar 0:0 (*scaffold PCL* saja), 1:10, 3:20, dan 2:10.
3. *Scaffold 3D PCL* menggunakan ukuran 15x15x2,5 mm dengan lebar *strand/strut* 500 μ m dan ukuran pori yang terbentuk $\pm$ 950 μ m, filamen PCL berasal dari Zhuhai Sunlu Industrial Co., LTD.
4. Karakterisasi yang dilakukan meliputi uji gugus fungsi dengan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR), uji morfologi dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM), uji sitotoksitas menggunakan MTT *assay*, uji kuat tarik, uji kuat tekan, uji *swelling*, dan uji degradasi.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui hasil sintesis *scaffold 3D printing polycaprolactone* hidrogel *silk fibroin-chitosan* sebagai penanganan defek meniskus lutut.
2. Mengetahui hasil karakterisasi *scaffold 3D printing polycaprolactone* hidrogel *silk fibroin-chitosan* sebagai penanganan defek meniskus lutut pada uji gugus fungsi dengan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR), uji morfologi *Scanning Electron Microscope* (SEM), uji sitotoksitas MTT *assay*, uji kuat tarik, uji kuat tekan, uji *swelling*, dan uji degradasi.

3. Mengetahui komposisi optimal variasi rasio volume *silk fibroin-chitosan* yang digunakan pada proses sintesis *scaffold 3D printing polycaprolactone* hidrogel *silk fibroin-chitosan* sebagai penanganan defek meniskus lutut.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis: Penelitian ini dapat menjadi referensi dan acuan teori mengenai proses sintesis dan karakterisasi *scaffold 3D printing polycaprolactone* hidrogel *silk fibroin-chitosan* sebagai penanganan defek meniskus lutut.
2. Manfaat Praktis: *Scaffold 3D printing polycaprolactone* hidrogel *silk fibroin-chitosan* sebagai artificial meniskus untuk mengatasi defek meniskus lutut yang memenuhi standar aplikasi medis.