

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA DAN DASAR TEORI

2.1. Tinjauan Pustaka

Kitosan merupakan polimer alam yang tersusun dari poli 2-Amino-2-Deoksi- β -D-Glukosa, yang merupakan turunan dari kitin, poli- β -N-asetil-D-glukosamin, yang merupakan suatu amino polisakarida alami yang melimpah kedua setelah selulosa di alam (Moustofa *et al*, 2009). Kitosan merupakan kandidat yang menjanjikan dalam mengobati luka. Kitosan mampu membentuk film yang kuat, mengabsorpsi air, dan biokompatibel. Selain itu, permeabilitas kitosan terhadap oksigen yang baik. Hal ini sangat penting untuk mencegah kekurangan oksigen pada bagian yang cidera (April, 2013).

Secara umum komposit tersusun dari komponen matriks (bahan pengikat) dan komponen *filler* (bahan pengisi) (Fathollahipour *et al*, 2015). Sulitnya membuat membran *nanofiber* menggunakan 100% kitosan dapat dilihat pada penelitian (Koosha *et al*, 2015). Dalam penelitian (Koosha *et al*, 2015) membahas kemampuan larutan campuran kitosan (CS) *blend* dengan PVA dalam proses *electrospinning*. Perbandingan campuran CS/PVA yang digunakan adalah 0/100, 30/70, 50/50, 70/30, dan 100/0. Koosha *et al*, (2015) bahwa campuran CS/PVA dapat dilakukan melalui proses *electrospinning* kecuali pada 100/0. Pada 100/0 sama sekali tidak terbentuk serat, hanya terdapat tetesan pada permukaan kolektor. Kondisi paling optimal dalam *electrospinning* terdapat pada perbandingan 0/100 dan 30/70.

Charernsriwilaiwat, (2012) mengatakan bahwa dengan penambahan konsentrasi kitosan mampu menghasilkan *bead* pada struktur *nanofiber*. Pada konsentrasi 40/60, dan 50/50 untuk kitosan/PVA mulai terlihat adanya *micro-bead*. Hal ini dikarenakan nilai viskositas mengalami penurunan untuk semua campuran kitosan dan PVA. Adapun untuk diameter serat yang dibentuk, penambahan kitosan mampu mengurangi diameter rata-rata *fiber* untuk semua

campuran kitosan/PVA (10/90, 20/80, 30/70, 40/60, 50/50) dari 228,06 nm sampai yang paling kecil 94,09 nm. Konduktivitas elektrik diukur pada larutan campuran kitosan/PVA. Nilai konduktivitas elektrik semakin bertambah seiring dengan penambahan konsentrasi kitosan.

Islam *et al*, (2015) telah melakukan penelitian *electrospinning* dengan bahan kitosan dan PVA pada konsentrasi kitosan 7%, 9%, dan 11%, metode *electrospinning* mampu membuat membran *nanofiber*. Membran *nanofiber* yang dihasilkan memiliki kuat tarik 3,2 – 3,8 MPa dan modulus membran 120 – 317,89 MPa. Kuat tarik dan modulus elastisitas relatif mengalami peningkatan dengan bertambahnya konsentrasi kitosan. Ini membuktikan bahwa metode *electrospinning* mampu menghasilkan membran dengan sifat mekanik baik. Sedangkan Abraham *et al*, (2015) melaporkan penelitian kitosan-PVA *blend* dengan metode *casting* mengalami penurunan sifat tarik dari 28-15 MPa seiring bertambahnya konsentrasi kitosan yang digunakan, yaitu 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, dan 7%. Konsentrasi PVA yang berkurang mampu mengurangi ikatan hidrogen yang dibentuk oleh kitosa dan PVA. Kitosan polisakarida bermuatan positif bergerak menuju muatan negatif gugus hidroksil dari PVA yang mampu meningkatkan kuat tarik dan perpanjangan film karena terjadi interaksi antar molekul antara kitosan dan PVA melalui pembentukan ikatan hidrogen. Oleh karena itu, dengan berkurangnya konsentrasi PVA mengakibatkan turunnya sifat tarik rata-rata dan persentasi perpanjangan pada spesimen.

Kang *et al*, (2009) telah membuat membran *nanofiber* PVA untuk aplikasi penyembuhan luka. Penelitian dilakukan pada tikus kecil (*mice*) yang diberi luka. Membran PVA dibuat dengan perlakuan panas (H-PVA) dan H-PVA yang dilapisi kitosan menjadi C-PVA. *Mice* kemudian diberi luka dengan proses perlakuan penyembuhan yang berbeda. Adapun perlakuan penyembuhan luka yang dilakukan antara lain melapisi luka dengan membran H-PVA, C-PVA, dan luka tanpa perlakuan. Pengamatan dilakukan selama 7 hari pada *mice*. Hasil menunjukkan perbandingan kontraksi pada luka (WCR. %) pada luka H-PVA dan C-PVA mengalami peningkatan signifikan dibanding dengan luka tanpa

perlakuan. Adapun WCR untuk setiap perlakuan penyembuhan luka antara lain $89 \pm 5,6\%$ (H-PVA), $90,7 \pm 4,3\%$ (C-PVA), dan $75,2 \pm 5,5\%$ (tanpa perlakuan). Hasil membuktikan bahwa membran *nanofiber* mampu membantu proses penyembuhan luka karena memiliki ratio luas permukaan per volume pada membran, dan struktur mikro pori pada membran *nanofiber*.

Metode serupa juga telah dilakukan oleh Fathollahipour *et al*, (2015) menggunakan bahan campuran PVA/kitosan dan mampu menghasilkan serat dengan diameter rata-rata 175 nm. Pada analisis FTIR mengkonfirmasi adanya gelatin *nanopartikel* (GNP) dalam struktur PVA/kitosan/*lidocaine*. Eksperimen anti bakteri menunjukkan lapisan *nonwoven* dari campuran PVA/kitosan yang mengandung GNP memiliki aktivitas antibakteri yang baik melawan mikroba *staphylococcus aureus* dan *pseudomonas aeruginosa* yang banyak ditemukan pada luka. Penelitian anti bakteri pernah dilakukan oleh Komariah, (2014) untuk mengukur keefektifan nano kitosan terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*. Percobaan dilakukan secara *in vitro* dengan konsentrasi nano kitosan 0.175%, 0.351%, 0.703%, 1.406%, 2.812%, 5.625%, 11.25%, 22.5%, 45%, dan 90%. Hasil menunjukkan konsentrasi hambat minimum (KHM) mulai terlihat dari 22.5%, dan semakin tinggi konsentrasi nano kitosan maka daya hambat pertumbuhan bakteri semakin turun. Sedangkan untuk konsentrasi bunuh minimum (KBM) terhadap bakteri adalah pada konsentrasi 45% nanokitosan.

2.2. Landasan Teori

2.2.1. Kitosan (*Chitosan*)

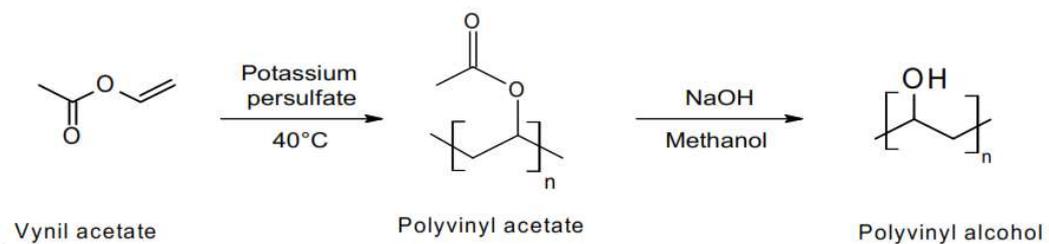
Polimer alam sangat tersedia melimpah dalam sumber daya alam dalam kelompok besar komposisi biologis termasuk polisakarida, protein, lipid, dan lain-lain (Watts *et al*, 2001). Diantara itu, polisakarida seperti kitin, kitosan, dan selulosa yang umum dimanfaatkan. Kitin dan kitosan merupakan polimer alam kedua yang paling melimpah setelah selulosa. Telah diketahui kitosan dan kitin memiliki sifat umum polisakarida seperti biokompatibilitas, biodegradabilitas, *non-toxic*, dan anti mikroba serta hidrofilik. Reaksi kitosan jauh lebih fleksibel

daripada selulosa karena adanya gugus NH_2 (Rafiqueet *al*, 2016). Polimer alam telah menarik perhatian tinggi selama dua dekade terakhir, karena ketersediaannya yang melimpah (Abraham *et al*, 2015).

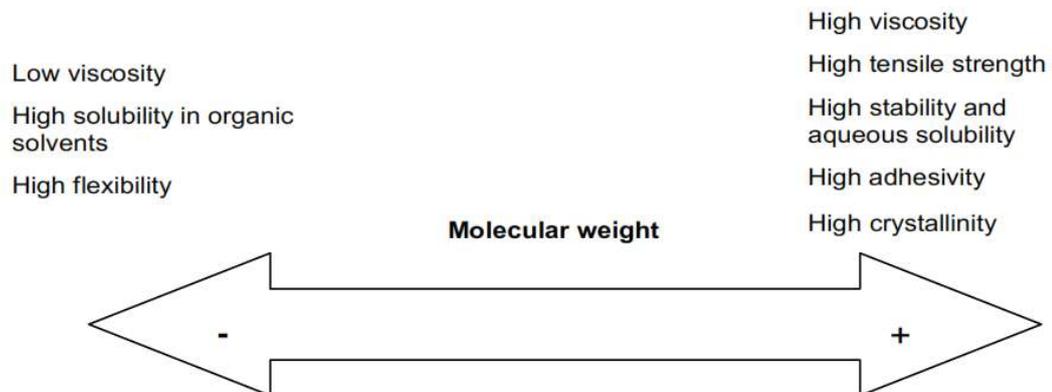
Sumber kitosan yang paling melimpah adalah inverteberata laut, serangga, dan jamur (Nicol *et al*, 1991). Kitosan dan kitin pada dasarnya adalah polimer karbohidrat alami yang ditemukan dalam kerangka krustasea, seperti kepiting, udang, dan lobster, dan juga *exoskeleton* spesies *zooplankton* laut termasuk karang dan ubur ubur (Struszczyk *et al*, 1991). Serangga memiliki kitin di sayap, seperti kupu-kupu dan serangga wanita, ada juga di dinding sel jamur, jamur, dan ragi. Kitosan dan kitin juga sering ditemukan pada tumbuhan sebagai bahan dinding sel dan juga pada kutikula hewan. Meskipun beberapa jamur terdapat kitosan, namun hanya diperoleh dengan deasetilasi kitin (Tsugita *et al*, 1990).

2.2.2. Polyvinyl Alcohol (PVA)

Polyvinyl alcohol (PVA) pertama kali disintesis oleh Hermann dan Haehnel pada tahun 1924 melalui saponifikasi *polyvinyl ester* dalam larutan *sodium hydroxide*. Karena vinyl alkohol tidak stabil dan mudah tertautimerisasi menjadi *acetaldehyde* (Matsumura, 2005), PVA secara komersial diproduksi melalui hidrolisis *polyvinyl acetat* (PVAc) setelah proses dua langkah yaitu polimerisasi radikal *vinyl asetat* menjadi PVAc diikuti hidrolisisnya seperti ilustrasi Gambar 2.1. Sifat struktural dari PVA tergantung pada berat molekul polimer dan tingkat hidrolisis, yaitu persentase *vinyl alcohol* dalam polimer. Adapun pengaruh berat molekul pada sifat fisik PVA dapat disaksikan pada gambar 2.2 (Finch, 1992).



Gambar 2.1. Metode konvensional sintesis PVA (Marin *et al*, 2014)



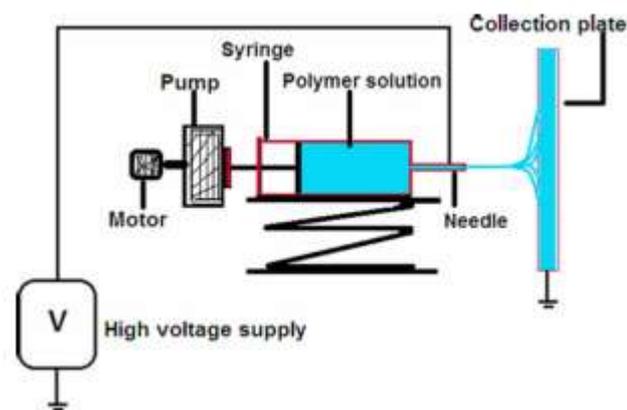
Gambar 2.2. Pengaruh berat molekul terhadap sifat fisis PVA (Marin *et al*, 2014)

Alasan utama dipilihnya PVA berbasis kitosan karena kedua polimer ini bersifat biokompatibel, biodegradabel, dan tidak beracun (Rao *et al*, 1997). Campuran polimer sintetik dan alami menunjukkan kelas material baru dan telah menarik perhatian peneliti sebagai biomaterial. Biopolimer menunjukkan biokompatibilitas yang baik tetapi sifat mekanik yang kurang baik. Untuk mengatasi kelemahan ini interaksi intermolecular yang menguntungkan dikembangkan di antara dua polimer yang berbeda dengan menggunakan rasio berat chitosan dan PVA yang berbeda (Samuels, 1981). Fungsionalisasi PVA dengan polimer alam, khususnya polisakarida seperti kitin dan kitosan ditemukan sangat cocok untuk pengembangan biomaterial. PVA berbasis kitosan adalah pilihan yang lebih menarik karena biokompatibilitas yang baik, biodegradabilitas, non-toksitas dan berbagai aplikasi kitosan di bidang biomedis (Rafique *et al*, 2016).

2.2.3. *Electrospinning*

Electrospinning merupakan metode untuk membuat serat dengan diameter dalam skala nano dengan memanfaatkan elektrostatik yang ada dari partikel bermuatan akibat tegangan tinggi antara kolektor dan *syringe* (ujung tip / *spinneret*) (Muhaimin *et al*, 2014). Teknik ini memiliki proses relatif sederhana,

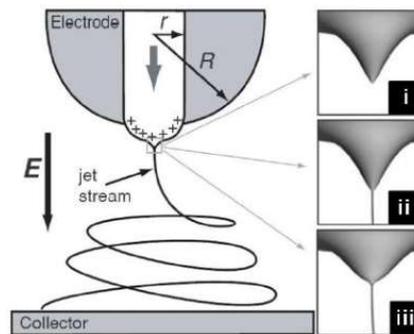
cepat, dan mampu menghasilkan serat yang cukup panjang (kontinyu) (Zubaidi, 2008). Pada metode ini dimana larutan polimer ditempatkan elektroda positif, dan elektroda negatif pada kolektor. Larutan polimer dialirkan melalui jarum yang melekat pada *syringe* pada tegangan yang ditentukan dan kemudian dikumpulkan pada bahan konduktif atau kolektor yang terletak pada jarak yang ditentukan pula. Larutan polimer dikeluarkan dari ujung jarum membentuk *nanofiber* secara terus menerus akibat gaya elektrostatis (Sauter, 2005).



Gambar 2.3. Skema Alat *Electrospinning* (Islam *et al*, 2015)

2.2.3.1. Tahapan Proses *Electrospinning*

Secara umum metode *electrospinning* mengalami tiga tahap yang disebut dengan *jet modeling* (Deniz, 2011). Tahap pertama merupakan proses inisiasi, yaitu mulai terbentuknya tetesan larutan pada ujung jarum hingga larutan mulai terpancar menuju kolektor (Muahimin *et al*, 2014). Pada proses ini ujung jarum akan membentuk kerucut *taylor* selama penyuntikan dari polimer (Gambar 2.4) (Deniz, 2011). Tahap kedua yaitu pemipihan Serat (*thinning fiber*) ditandai adanya *jet stream* pada ujung jarum. Tahap terakhir yaitu penguapan dan pembekuan fiber atau biasa disebut *jet solidification*, dimana pelarut pada larutan yang ada di *jet stream* akan menguap, lalu zat terlarut akan membeku dan sampai pada kolektor. Tahap ini terjadi pada zona *instability* (area antara ujung jarum dengan kolektor) (Deniz, 2011).



Gambar 2.4. Skema tahap inisiasi; (i) pembentukan *taylor cone* karena adanya medan listrik, (ii) pelepasan larutan dan (iii) raksi turun asanya tegangan permukaan (Deniz, 2011)

2.2.3.2. Parameter yang mempengaruhi proses *electrospinning*

Adpun dalam proses *electrospinning* terdapat beberapa faktor yang mampu mempegaruhi morfologi membran *nanofiber*. Secara garis besar parameter *electrospinning* dapat dikategorikan sebagai berikut:

a. Sifat larutan polimer

Sifat larutan polimer yang mempengaruhi pembentukan serat nano antara lain; konsentrasi, viskositas, konduktivitas, dan tegangan permukaan larutan. Karakteristik konsentrasi larutan berbanding lurus dengan viskositas larutan, dimana memiliki pengaruh penting dalam ukuran dan morfologi *nanofiber*. Jika konsentrasi terlalu rendah maka akan terbentuk *nanofiber* seperti noda bulat atau bintik (*bead*) pada permukaan membran *nanofiber* (Charernsriwilaiwatet *al*, 2010). Namun, viskositas tinggi pada proses *electrospinning* tidak mungkin dilakukan karena terjadi penyumbatan di ujung jarum (pelarut lebih cepat menguap). Larutan dengan koduktivitas atau kerapatan muatannya lebih tinggi umumnya membantu menghasilkan serat yang lebih seragam (Lin *et al*, 2004).

b. Kontrol variabel

Dalam parameter kontrol variabel terdapat beberapa pengaruh yang dapat dikendalikan seperti besar medan listrik (tegangan), jarak antara ujung jarum dengan kolektor (tip to collector distance/TCD), laju aliran polimer, dan disain ujung jarum. Medan listrik harus cukup kuat untuk mengatasi tegangan permukaan polimer. Di sisi lain, *electrospinning* dengan tegangan rendah memungkinkan terbentuknya *bead* (Matthews *et al*, 2002). Laju aliran rendah memungkinkan mendapatkan serat dengan keseragaman yang baik dan diameter lebih kecil, sementara laju aliran tinggi menghasilkan *nanofiber* yang memiliki *bead* karena tidak cukup waktu bagi palarut untuk menguap sebelum mncapai kolektor. (Dalton & Moller, 2005).

c. Pengaruh lingkungan

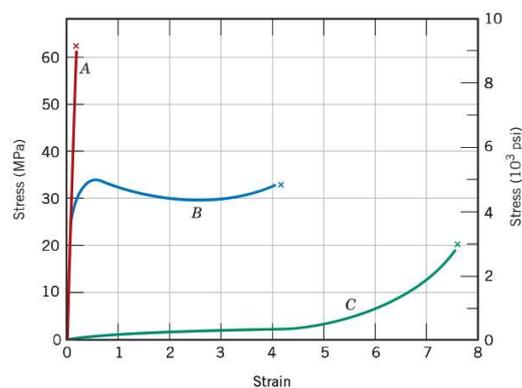
Adapun lingkungan yang dapat mempengaruhi adalah kelembapan udara, suhu ruangan, dan kecepatan udara (Doshi & Reneker, 1995). Dimana tingginya kelembapan udara mampu menurunkan diameter fiber, akan tetapi terlalu tinggi bisa membuat kolektor basah karena penguapan yang kurang sempurna. Adapun kelembapan terlalu rendah sangat sulit untuk membentuk *fiber* (Pelipenko *et al*, 2013).

2.2.4. Sifat Tarik

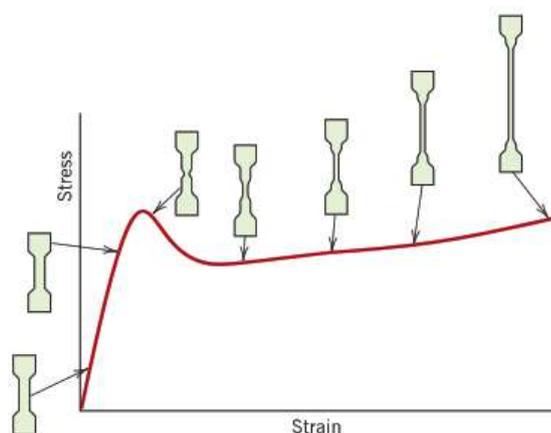
Polimer memiliki struktur berbeda sehingga perilaku mekanisnya tidak selalu sama dengan perilaku keramik nonsilikat atau logam. Gambar 2.5 menunjukkan pola perilaku dari uji tarik dengan bahan polimer yang memiliki karakter dan sifat berbeda. Pada semua padatan, tegangan akan menimbulkan regangan elastis (deformasi elastis). Ketika ada tegangan, reganga elastis akan timbul, tetap konstan apabila teganganya juga konstan dan hilang jika tegangan juga hilang.

Deformasi elastis merupakan regangan yang dapat balik (*reversibel*) seperti pada Gambar 2.6. Jika tegangan diberikan dalam bentuk tarik, material akan bertambah panjang, bila beban dihilangkan material tersebut akan kembali ke dimensi semula. Sebaliknya, jika material menerima penekanan, material akan menjadi lebih pendek.

Untuk tegangan yang lebih tinggi terjadi pergeseran tetap dari atom-atom dalam suatu bahan selain regangan elastis. Regangan ini tidak mampu kembali saat beban atau tegangan dihilangkan, regangan ini disebut dengan regangan plastis. Pada pemakaian produk, deformasi plastis selalu dihindari sehingga desain dilandaskan pada tegangan-tegangan di daerah elastis (proporsional) (Sumaryono, 2012)



Gambar 2.5. Pola perilaku sifat tarik untuk A) getas, B) plastik, dan C) elastomerik polimer (Callister, 2007)



Gambar 2.6. Ilustrasi deformasi spesimen saat pengujian tarik (Jerold, 1974)

Dalam pengujian tarik, ketika spesimen diberi beban, maka spesimen akan mengalami perpanjangan, sampai kemudian mengalami deformasi dan putus. Jika l_1 adalah panjang awal atau mula-mula spesimen dan l_2 merupakan panjang akhir spesimen setelah pembebanan, maka perpanjangan per satuan panjang (ϵ) adalah:

$$\epsilon = \frac{l_2 - l_1}{l_1} \dots\dots\dots(2.1)$$

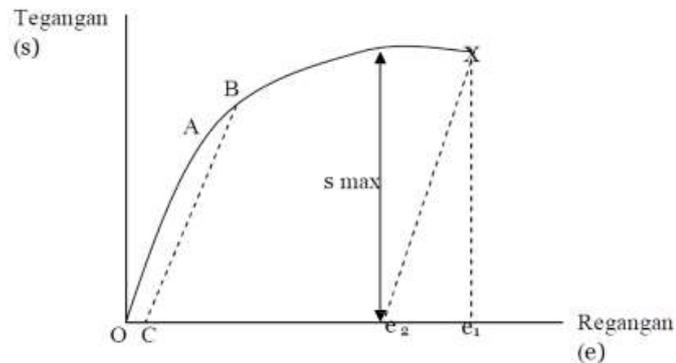
Perpanjangan per satuan panjang ini juga disebut regangan (*strain*). Dari *strain* bisa diketahui sifat mampu bentuk dari spesimen. Semakin besar regangan berarti kemampuan mampu bentuk dari spesimen semakin baik. Disamping itu spesimen juga menerima pembebanan (F) per satuan luas (A) atau yang disebut sebagai kuat tarik (tegangan) yang besarnya adalah:

$$\sigma = \frac{F}{A} \dots\dots\dots(2.2)$$

Modulus elastisitas merupakan nilai dalam mengukur ketahanan material saat mengalami deformasi elastis ketika diberikan pembebanan pada spesimen. Modulus elastisitas dapat dicapai ketika nilai dari regangan (ϵ) dan kuat tarik bahan (σ) telah didapat, berikut merupakan persamaan dari modulus elastisitas:

$$E = \frac{\sigma}{\epsilon} \dots\dots\dots(2.3)$$

Pada pengujian tarik akan didapat diagram hubungan antara tegangan dan regangan. Dimana bentuk diagram yang didapat akan berbeda untuk setiap material. Kekuatan tarik ditunjukkan dengan nilai tegangan maksimum (S_{max}). Diagram tegangan-regangan uji tarik untuk bahan ulet bisa disaksikan pada gambar 2.7.



Gambar 2.7. Kurva tegangan-regangan bahan ulet (Sumaryono, 2012)

Daerah elastis dimulai titik O sampai dengan titik A. Titik A merupakan batas elastis dimana bahan mengalami pembebanan terbesar yang dapat ditahan oleh spesimen tanpa mengalami regangan plastis. Penentuan titik batas elastis sangat dipengaruhi oleh tingkat kepekaan instrument pengukur regangan. Oleh sebab itu, penentuannya sering diganti dengan batas proporsional. Batas proporsional terletak tepat pada penyimpangan garis batas elastis terhadap kesejajarannya.

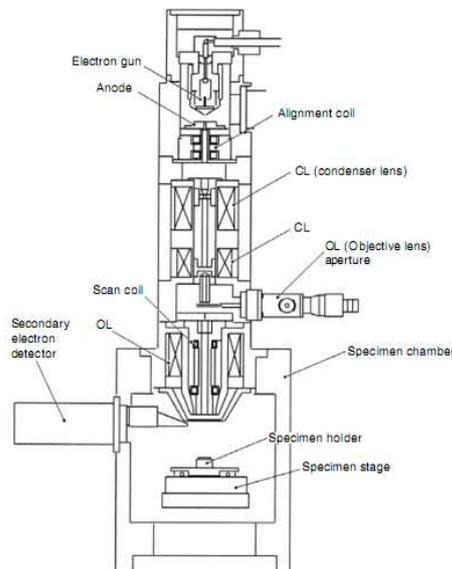
2.2.5. *Scanning Electron Microscope (SEM)*

Scanning Electron Microscope (SEM) adalah salah satu instrument serbaguna yang tersedia untuk pengamatan dan karakterisasi komposisi kimia. Mikroskop optik telah dan menjadi peranan penting untuk penelitian ilmiah. Sejak penemuan bahwa elektron mampu dibelokkan oleh medan magnet dalam berbagai eksperimen pada tahun 1890 (Wells *et al*, 1974), *electron microscope* telah dikembangkan dengan mengganti sumber cahaya dengan sinar elektron berenergi tinggi.

2.2.5.1. Konfigurasi *Scanning Electron Microscope (SEM)*

Pada bagian ini, akan dibahas secara umum tentang komponen utama dalam SEM. Gambar 2.8 memperlihatkan struktur kolom dari SEM konvensional. *Electron gun*, yang berada di atas kolom menghasilkan elektron dan

mempercepatnya hingga tingkat energi 0,1-30 keV. Diameter sinar elektron yang dihasilkan oleh *tungsten gun* terlalu besar untuk membentuk citra dengan resolusi tinggi. Jadi, lensa dan lubang elektromagnetik digunakan untuk memfokuskan dan menentukan berkas elektron dan membentuk titik elektron terfokus pada specimen. Proses ini memfokuskan ukuran sumber elektron ($\sim 50 \mu\text{m}$ untuk filamen tungsten) ke ukuran tempat yang diperlukan (1-100 nm). Lingkungan vakum tinggi memungkinkan perjalanan electron tanpa hamburan oleh udara diperlukan. *Specimen stage, electron beam scanning coils, signal detection, dan processing system* menyediakan observasi *real-time* dan perekaman gambar permukaan spesimen (Zhou *et al*, 2006).

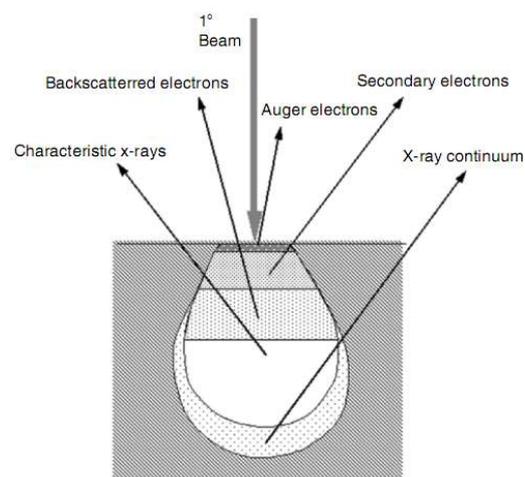


Gambar 2.8. Diagram skematik SEM JSM-5410, JEOL, USA (Zhou *et al*, 2006)

2.2.5.2. Interaksi Elektron dengan Sampel

Pembentukan gambar SEM tergantung pada perolehan sinyal yang dihasilkan dari sinar elektron dan interaksi spesimen. Interaksi ini dapat dibagi dua kategori utama yaitu interaksi elastis (*elastic*) dan interaksi inelastis (*inelastic*). Hasil hamburan elastis dari pantulan insiden elektron (*incident electron*) dengan inti atom spesimen atau elektron kulit terluar dari energi yang

sama. Interaksi semacam ini ditandai dengan hilangnya energi yang dapat diabaikan selama tabrakan dan dengan perubahan arah lebar dari elektron yang tersebar. Insiden elektron yang tersebar secara elastikal melalui sudut lebih dari 90° disebut *backscattered electrons* (BSE), dan menghasilkan sinyal yang berguna untuk pencitraan sampel. Hamburan inelastik terjadi melalui berbagai interaksi antara elektron insiden dan elektron dan atom sampel, dan menghasilkan elektron pancaran primer mentransfer energi substansial ke atom itu. Jumlah kehilangan energi tergantung pada apakah spesimen elektron tertarik secara tunggal atau kolektif pada energi ikat elektron ke atom. Akibatnya, eksitasi dari spesimen elektron selama ionisasi atom spesimen mengarah pada pembentukan *secondary electron* (SE), yang secara konvensional didefinisikan sebagai memiliki energi kurang dari 50 eV dan dapat digunakan untuk gambar atau menganalisis sampel. Selain sinyal-sinyal yang digunakan untuk membentuk gambar, sejumlah sinyal lain dihasilkan ketika berkas elektron menabrak sampel, termasuk emisi karakteristik x-ray, elektron *Auger*, dan *cathodoluminescence*. Gambar 2.9 menunjukkan perbedaan daerah sinyal-sinyal yang terdeteksi (Zhou *et al*, 2006).



Gambar 2.9. Ilustrasi beberapa sinyal yang dihasilkan oleh *electron beam*-interaksi spesimen dalam SEM dan daerah sinyal yang bisa dideteksi (Zhou *et al*, 2006).