

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Teknologi Rekayasa Jaringan (*Tissue Engineering*)

Istilah *tissue engineering* (rekayasa jaringan) dideskripsikan pertama kali pada 1980an, dan definisi resmi pertama disetujui pada tahun 1987 (Lysaght dan Crager, 2009). Rekayasa jaringan merupakan suatu bidang multidisiplin yang berkembang pesat melibatkan ilmu hayati, fisika, dan teknik yang dipelajari untuk menumbuhkan fungsi sel, jaringan, dan organ buatan untuk memperbaiki, menggantikan, atau meningkatkan fungsi biologis yang hilang oleh abnormalitas bawaan, luka, penyakit atau penuaan (Pettersson, 2009). Strategi yang umum diterapkan pada rekayasa jaringan dapat diklasifikasikan menjadi tiga kelompok : (1) implantasi sel terisolasi atau pengganti sel ke dalam organisme, (2) memberikan zat yang menginduksi jaringan seperti faktor pertumbuhan, dan menempatkan sel pada atau di dalam matriks (Lanza *et al*, 2007). Rekayasa jaringan memiliki prinsip kerja yaitu dapat menghubungkan antara fungsi struktur jaringan normal dan kondisi patologis, serta memiliki fungsi sebagai pengganti jaringan biologis yang mampu memulihkan, mempertahankan atau meningkatkan fungsi jaringan (Lanza *et al*, 2007).

Menurut Seitz *et al* (2006), faktor-faktor yang berpengaruh pada pembentukan jaringan baru yaitu faktor pertumbuhan, sitokin dalam sistem imunologi, faktor kekuatan mekanik, pengaruh genetik, dan molekul ECM (*Extra Cellular Matrix*) serta molekul permukaan sel yang berpengaruh pada pengaturan

fungsi sel baru melalui interaksi sel matriks. Pada prakteknya, pendekatan umum dalam teknologi rekayasa jaringan adalah melalui penanaman sel pada suatu perancah yang berperan sebagai substrat perlekatan bagi sel yang tidak mampu tumbuh sendiri. Lanza *et al* (2007), menyebutkan hal-hal yang dikendalikan dalam menciptakan rekayasa jaringan meliputi sel, material dan faktor lingkungan. Tiga faktor tersebut dapat mempengaruhi terbentuknya rekayasa jaringan, namun tidak setiap strategi regenerasi harus melibatkan ketiga elemen tersebut. Perancah biomaterial dapat diimplankan tanpa penanaman sel terlebih dulu. Biomaterial dapat berperan sebagai perancah disaat sel di jaringan sekitarnya bermigrasi dan tumbuh pada perancah untuk menghasilkan jaringan baru. Faktor lingkungan tidak dapat dikesampingkan sepenuhnya, sebagaimana sel selalu dipengaruhi oleh lingkungan sekitarnya, baik secara fisiologis maupun buatan (Pettersson, 2009).

## **B. Sistem Perancah (*Scaffold*)**

Penelitian tentang penggunaan perancah saat ini sangat banyak dilakukan dan menjadi bagian perkembangan ilmu rekayasa jaringan (*tissue engineering*). Perancah secara umum didefinisikan sebagai suatu material yang mampu mendukung, menghantarkan matriks atau *vehicle* untuk memfasilitasi migrasi sel, mengikat atau mengirim sel atau molekul bioaktif yang digunakan untuk mengganti, memperbaiki, atau regenerasi jaringan. Perancah yang mulai berkembang saat ini tidak hanya mendukung pertumbuhan sel tetapi bisa

membawa molekul bioaktif yang memiliki fungsi biologis tertentu (Gualandi, 2011). Perancah yang digunakan harus mempunyai karakteristik kunci yang sesuai dengan jaringan atau organ yang dituju antara lain : porositas, mikrostruktur, makrostruktur, biokompatibilitas, biodegradabilitas, dan kekuatan mekanik (Yoon dan Fisher, 2007).

Material *scaffold* ada yang bersumber dari bahan-bahan sintetik, semi sintetik dan ada yang berasal dari bahan-bahan alam. Sebagian besar bahan-bahan ini telah dikenal di bidang medis sebelum munculnya teknik jaringan sebagai topik penelitian. Biomaterial baru telah direkayasa untuk memiliki sifat yang ideal, seperti penelitian Fernandes (2011) yang mengemukakan beberapa karakteristik lain dan persyaratan yang harus dipertimbangkan untuk semua desain perancah, yaitu :

1. Biokompatibel, perancah harus mendukung pertumbuhan jaringan baru dan mencegah reaksi yang mempengaruhi kerusakan jaringan di sekitarnya.
2. *Biodegradable*, kecepatan biodegradasi harus dikendalikan dan sesuai dengan pembentukan jaringan baru pada sel normal.
3. Meningkatkan perlekatan sel, penyebaran dan proliferasi sel yang mempengaruhi regulasi pertumbuhan dan diferensiasi sel.
4. Memiliki kekuatan mekanis yang sesuai, kekuatan mekanis dari perancah bersifat fleksibel yakni tergantung pada tempat atau organ target.

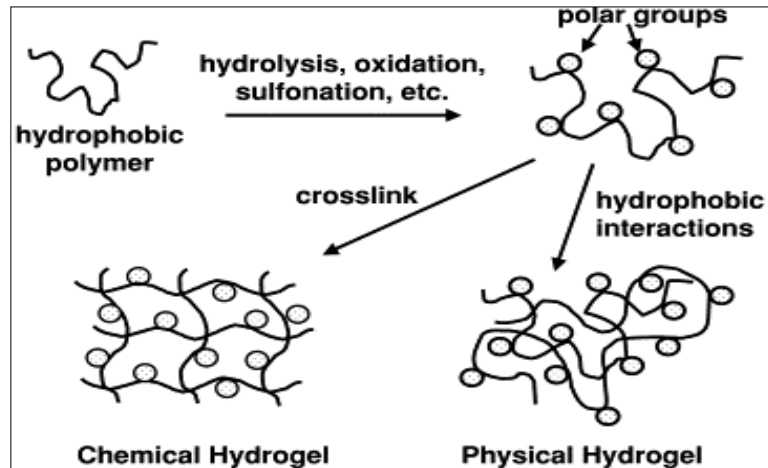
5. Sebagai penghantar yang baik dalam transfer nutrisi ke dalam sel, karena sel harus memiliki nutrisi yang cukup.
6. Memiliki karakteristik permukaan yang sesuai, selain sifat fisika dan kimia yang optimal perancah harus mampu meningkatkan fungsi organ.
7. Bentuk tiga dimensi yang tepat dapat mempengaruhi perkembangan teknologi pada rekayasa jaringan.

Beberapa karakteristik yang telah disebutkan diharapkan saat sel membentuk matriks pengikat, penyangga dapat memberi dukungan struktural dan setelah jaringan terbentuk perancah mulai terurai (Fernandes *et al*, 2011).

### C. Hidrogel

Hidrogel merupakan suatu jaringan polimer hidrofilik yang telah mengalami *crosslink*, berbentuk tiga dimensi, tidak larut dalam air dan telah banyak digunakan untuk berbagai aplikasi biomedis (Pal *et al*, 2006). Hidrogel mampu menyerap air dalam jumlah besar, bersifat biokompatibel, dan tidak menyebabkan iritasi pada jaringan lunak. Hidrogel memiliki biokompatibilitas yang tinggi karena mempunyai tegangan antarmuka yang rendah dengan substansi biologis sehingga meminimalkan adhesi sel. Sifatnya yang lunak dapat meminimalkan gesekan dan iritasi pada jaringan oleh karena itu hidrogel dapat digunakan sebagai pelindung atau *barriers* dan perancah pada jaringan yang luka atau rusak untuk membantu dan mempercepat proses penyembuhan (Mohsen *et al*, 2011). Menurut Hoffman (2002), hidrogel dapat digolongkan menjadi dua berdasarkan cara *crosslink*-nya yaitu secara kimiawi (*chemically*) dan fisik

(*physical*). Proses *crosslinking* secara kimiawi merupakan *crosslink* secara kovalen, mampu menyerap air hingga mencapai kesetimbangan dan memiliki stabilitas yang tinggi pada berbagai kondisi di antaranya temperatur tinggi, asam atau basa dan tegangan atau *stress* yang tinggi. Senyawa yang biasa digunakan untuk proses *crosslinking* atau *crosslinking agent* secara kimiawi antara lain glutaraldehid, formaldehid, dan polialdehid (Schacht, 2004). Proses *crosslinking* secara fisik merupakan *crosslink* non-kovalen, lebih lemah dibandingkan *crosslinking* secara kimiawi, interaksi antar rantainya lebih bersifat reversibel, dan bereaksi terhadap perubahan fisik atau lingkungan. Pembentukan *crosslink* secara fisik melalui interaksi hidrofobik, interaksi muatan, atau dengan ikatan hidrogen. Proses *crosslink* secara fisik maupun kimia menyebabkan hidrogel mampu menyerap air tanpa larut karena molekul-molekul hidrofilik saling berikatan satu dengan yang lain. Hidrogel dapat dibuat dari polimer sintetis atau alami. Polimer tersebut bersifat hidrofilik dan dapat membentuk ikatan silang dalam beberapa cara baik kimia maupun fisik untuk mencegah degradasi polimer. Polimer sintetis yang paling sering digunakan untuk teknik jaringan adalah poli etilena glikol (PEG), poli vinil alkohol (PVA), polimer akrilik, dan derivatnya (Lutolf, 2003). Struktur hidrogel melalui proses *crosslinking* secara kimia (*chemical hydrogel*) lebih teratur dibandingkan proses *crosslinking* secara fisik (*physical hydrogel*) seperti ditunjukkan pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Struktur *Chemical Hydrogel* dan *Physical Hydrogel* (Hoffman, 2002)

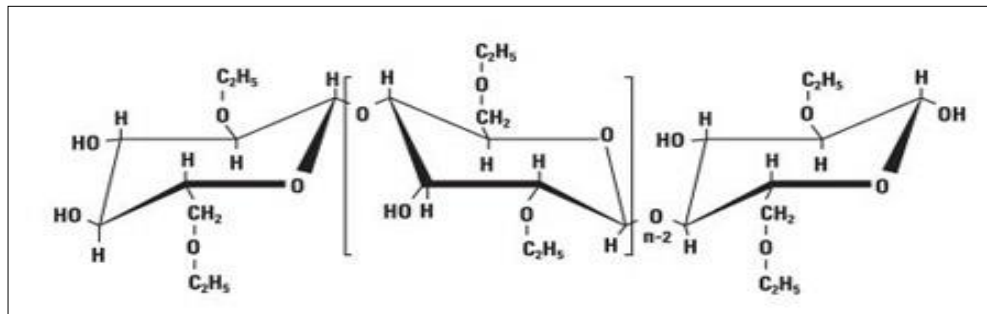
Polimer alami yang paling sering digunakan sebagai perancah hidrogel dalam rekayasa jaringan adalah alginat, *hyaluronate*, kolagen, dan derivatnya.

#### D. Etil selulosa

Etil selulosa merupakan polimer semi sintetik derivat selulosa. Etil selulosa (Gambar 2) bersifat hidrofobik akibat substitusi alkil pada berbagai posisi gugus hidroksi selulosa. Menurut Shokri dan Adibkia (2013), etil selulosa digunakan secara luas sebagai bahan pelapis tablet dan matriks dalam mikrokapsul serta bentuk sediaan *controlled release dosage*. Etil selulosa membentuk karakteristik yang sangat baik sehingga menjadi salah satu polimer yang paling penting dalam *controlled release dosage form*. Film etil selulosa tanpa *plasticizer* sulit untuk digunakan sebagai pelapis, oleh karena itu *plasticizer* atau agen pelunakan ditambahkan ke etil selulosa agar lebih kenyal. Penambahan *plasticizer* juga mengurangi tekanan internal pada lapisan film sehingga membuat membran atau

film menjadi lebih bagus. Dalam studi sebelumnya *standard 10 premium film ethyl cellulose* dibuat menggunakan berbagai kuantitas *plasticizer* sehingga pelepasan obat melambat serta meningkatkan fleksibilitas rantai polimer yang menghasilkan cangkang keras menjadi fleksibel dan kuat (Murtaza, 2012).

Dalam bidang farmasi, etil selulosa dimanfaatkan sebagai bahan pengikat tablet, penyalut, penambah viskositas sediaan liquid, memodifikasi pelepasan obat, meningkatkan stabilitas sediaan obat (Kulvanich *et al*, 2002). Semakin tinggi viskositas atau semakin tinggi bobot molekul etil selulosa, menghasilkan karakteristik membran yang lebih tangguh dan tahan lama (Chandel *et al*, 2013).

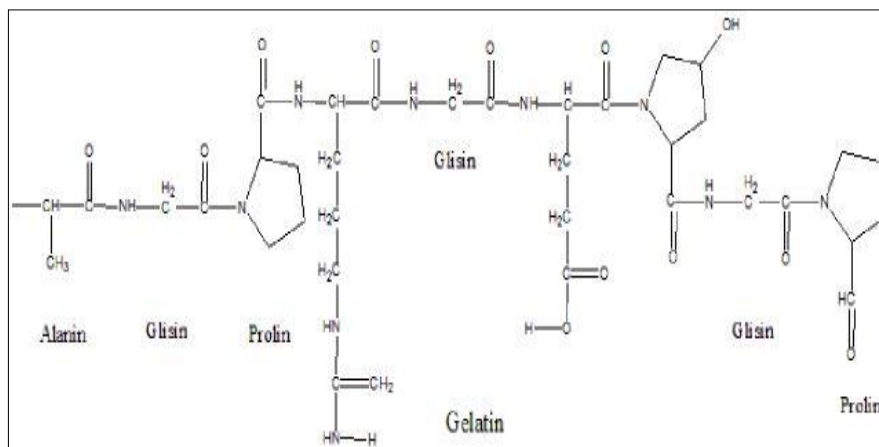


**Gambar 2.** Rumus Struktur Etil Selulosa (Murtaza, 2012)

## E. Gelatin

Gelatin merupakan hasil hidrolisis parsial dari jenis protein kolagen yang merupakan penyusun terbesar pada jaringan pengikat yang memiliki berat molekul gelatin berkisar 90.000 (Pranoto, 2006). Menurut Bestebroer *et al* (2007), gelatin tersusun oleh 18 asam amino yang saling terikat, terdiri dari glisin (21%), prolin (12%), hidroksiprolin (12%), asam glutamat (10%), alanin (9%), arginin (8%),

asam aspartat (6%), lisin (4%), serin (4%), leusin (3%), valin (2%), fenilalanin (2%), treonin (2%), isoleusin (1%), hidrosilisin (1%), metionin dan histidin (<1%), serta tirosin (<0,5%). Muatan asam amino dapat berubah positif atau negatif tergantung dari komposisi gelatin dan media sekitarnya (pelarut). Struktur molekul gelatin dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Rumus Struktur Gelatin (Chaplin, 2006)

Gelatin memiliki sifat yang khas. Gelatin larut dalam air panas dan jika didinginkan akan membentuk gel yang dapat berubah secara *reversible* dari bentuk sol ke gel seiring dengan menurun atau naiknya suhu, membengkak atau mengembang dalam air dingin, dapat membentuk film, mempengaruhi viskositas suatu bahan dan dapat melindungi sistem koloid (Amiruldin, 2007). Berdasarkan sifat-sifatnya gelatin digunakan sebagai bahan tambahan (*additive*) pada beberapa bahan utama industri baik pangan maupun non-pangan.

Ada beberapa keuntungan penggunaan gelatin sebagai bahan untuk pembuatan perancah yaitu : (1) secara luas tercatat memiliki sifat biokompatibel



yang baik dan (2) tersedia sebagai molekul yang teridentifikasi dengan baik (*well-defined compound*) sehingga memberikan sifat *well-controlled processing* (Chang *et al*, 2003). Hidrogel gelatin mengalami pembengkakan atau mengembang (*swelling*) ketika menyerap air, gelatin mampu menyerap air 5-10 kali bobotnya, dan dapat berubah secara reversibel dari sol ke gel (Maddu *et al*, 2006).

#### **F. Metode *Ice Particle Leaching***

Metode yang digunakan untuk membuat perancah berpori tiga dimensi adalah metode *porogen-leaching*. Metode ini dapat dengan mudah mengendalikan struktur pori dan telah banyak dimanfaatkan. Baru-baru ini, beberapa partikel larut air termasuk garam dan karbohidrat, telah digunakan sebagai bahan pembuat pori (Subia *et al*, 2010). Pembuatan jaringan perancah melibatkan : (1) melarutnya polimer dalam pelarut organik, (2) penggabungan porogen, dan (3) *leaching porogens*. Struktur pori yaitu, porositas, ukuran pori, dan morfologi pori dapat dengan mudah dikontrol dengan mengendalikan sifat-sifat porogen. Perancah berpori 3D ini mendukung pertumbuhan sel baik *in vitro* dan *in vivo* (Gilson *et al*, 2006). Menurut Gilson *et al* (2006), metode *porogen-leaching* menggunakan butiran es sebagai bahan perancah. Porogen dibuat dengan mencampur larutan polimer dalam pelarut dengan butiran es, yang kemudian dilakukan pembekuan campuran, dan *freeze drying*. Karakteristik dari metode ini adalah :

1. Ukuran partikel es dikendalikan oleh saringan dan diukur dengan *photomicrographs*.
2. Diameter partikel es yang dihasilkan hampir terlihat bulat.

3. Perancah yang dihasilkan secara fisik terlihat stabil.
4. Perancah berpori 3D yang dihasilkan memiliki derajat porositas hingga 99% dan diameter pori hingga 400  $\mu\text{m}$ .

Metode *ice particle leaching* harus dilakukan dalam kondisi dingin karena selama pembekuan mengalami perubahan bentuk butiran es dan dapat terjadi pemisahan fase dalam larutan polimer, sehingga struktur pori yang dihasilkan setelah kering mengalami kecacatan. Teknik ini dapat dilakukan pada skala kecil, sehingga banyak digunakan selama tahap pengembangan sistem hidrogel baru, namun karena keterbatasan yang terkait dengan menghilangkan partikel padat dari hidrogel, teknik ini biasanya terbatas pada fabrikasi hidrogel yang tipis (biasanya kurang dari 500  $\mu\text{m}$ ) yang kemudian harus dirakit menjadi sebuah konstruksi yang lebih besar (Annabi, 2010).

## **G. Karakteristik Membran Hidrogel**

### **1. Uji Organoleptik**

Uji organoleptik adalah cara mengukur, menilai atau menguji mutu suatu komoditas dengan menggunakan kepekaan alat indra manusia, yaitu mata, hidung, mulut, dan ujung jari tangan. Uji organoleptik juga disebut pengukuran subjektif karena didasarkan pada respon subjektif manusia sebagai alat ukur (Soekarto, 1990). Penilaian mutu atau analisa sifat-sifat sensorik suatu komoditas diperlukan satu atau sekelompok orang yang bertugas untuk menilai sifat atau mutu benda berdasarkan kesan subyektif. Menurut Soekarto (1990),

pengujian organoleptik memiliki berbagai macam cara yang digolongkan dalam beberapa kelompok. Berikut adalah jenis pengelompokan untuk menguji sifat organoleptik :

a. Uji perbedaan

Pengujian perbedaan digunakan untuk menetapkan perbedaan sifat sensorik atau organoleptik antara dua sampel.

b. Uji hedonik atau kesukaan

Dalam uji ini mengungkapkan tanggapan pribadi tentang kesukaan atau ketidaksukaan, sekaligus tingkatannya. Tingkat kesukaan disebut skala hedonik, misalnya amat sangat suka, sangat suka, suka, agak suka, netral, agak tidak suka, tidak suka dan amat tidak suka.

c. Uji mutu hedonik

Pengujian ini merupakan penilaian sensorik yang didasarkan pada sifat-sifat sensorik yang lebih spesifik dan meliputi banyak sifat sensorik yang dinilai dan dianalisa sehingga dapat menyusun mutu sensorik secara keseluruhan, karena mutu umumnya ditentukan oleh beberapa sifat sensorik. Sifat sensorik yang dipilih sebagai pengukur mutu adalah yang paling peka dan paling relevan terhadap mutu.

## **2. Uji Kekuatan Tarik (*Tensile Strength*)**

Kekuatan tarik atau *tensile strength* merupakan salah satu indikator kekuatan mekanis suatu material. Kekuatan tarik diukur sebagai parameter

kekuatan mekanis membran hidrogel karena tujuan material ini sebagai perancah harus mampu menahan dan melindungi jaringan target. Ketika terjadi gerakan atau *stress* di sekitar jaringan, maka perancah harus mampu bertahan dan tidak berubah strukturnya sehingga perancah bisa berfungsi dengan baik (Schlogl, 2012).

Kemampuan bertahan suatu material terhadap suatu gaya tarik berhubungan dengan posisi dan jarak antar atom-atom. Atom-atom dalam suatu material selalu menjaga jarak stabilnya. Apabila ada gaya luar yang bekerja, material tersebut akan bertahan agar atom-atomnya tetap berada pada jarak idealnya sehingga struktur material tidak berubah. Kekuatan tarik diperoleh dengan menggunakan pengukuran elastisitas ( $k$ ) dan gaya putus membran yang dikonversi menjadi nilai UTS (*Ultimate Tensile Strength*), persamaan (1).

$$UTS = \frac{F}{A} \quad (1)$$

### **3. Analisis Persen *Age Swelling***

Salah satu karakteristik yang sangat penting apabila membran hidrogel akan digunakan dalam aplikasi biomedis adalah persen *age swelling* (%S). Persen *age swelling* menunjukkan kemampuan suatu material untuk menyerap suatu larutan di lingkungannya baik air maupun cairan tubuh hingga mencapai keadaan setimbangnya. Banyaknya cairan yang mampu diserap oleh hidrogel mempengaruhi kemampuan difusi hidrogel (Pal *et al*, 2009). Persen *age swelling* membran hidrogel diuji menggunakan NaCl fisiologis sebagai analog

cairan tubuh. Besarnya persen *age swelling* dapat dihitung menggunakan persamaan (2).

$$\% S = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100 \quad (2)$$

Dalam persamaan tersebut  $W_s$  adalah berat membran hidrogel setelah direndam di dalam NaCl fisiologis, dan  $W_d$  adalah berat membran hidrogel sebelum sampel direndam di dalam NaCl fisiologis. Hasil analisis persen *age swelling* membran hidrogel dapat digunakan untuk mengetahui kemampuan difusi hidrogel sebagai perancah dalam menghantarkan obat maupun *growth factor*.

#### 4. Analisis *Weight Loss*

Uji *Weight loss* digunakan untuk mengetahui kehilangan berat terhadap waktu yang diukur pada keadaan kering setelah membran mulai mengalami degradasi. Besarnya *weight loss* dapat dihitung menggunakan persamaan (3).

$$\text{Weight loss} = \frac{W_{d,t=0} - W_{d,t=n}}{W_{d,t=0}} \quad (3)$$

dengan  $W_{d,t=0}$  adalah berat kering membran hidrogel pada saat  $t=0$  sedang  $W_{d,t=n}$  adalah berat kering membran hidrogel yang sudah terdegradasi pada saat  $t=n$ .

Uji *weight loss* yang diukur terhadap waktu dapat mengetahui besarnya degradasi intermolekuler *crosslinks* di dalam jaringan polimer ketika mulai rusak atau *disintegrated* (Dutta, 2012).

#### 5. Pemeriksaan Mikroskopik (*Scanning Electron Microscope*)

SEM (*Scanning Electron Microscopy*) merupakan suatu metode untuk membentuk bayangan daerah mikroskopis permukaan sampel. Analisis menggunakan SEM akan menghasilkan gambaran morfologi spesimen yang diteliti (Bestebroer *et al*, 2007). Membran yang dibuat dalam penelitian ini juga akan memberikan suatu berkas elektron berdiameter antara 5 hingga 10 nm dilewatkan sepanjang spesimen sehingga terjadi interaksi antara berkas elektron dengan spesimen menghasilkan beberapa fenomena berupa pemantulan elektron berenergi tinggi, pembentukan elektron sekunder berenergi rendah, penyerapan elektron, pembentukan sinar-X, atau pembentukan sinar tampak. Setiap sinyal yang terjadi dapat dimonitor oleh suatu detektor (Rohaeti, 2009).

## **H. Kerangka Konsep**

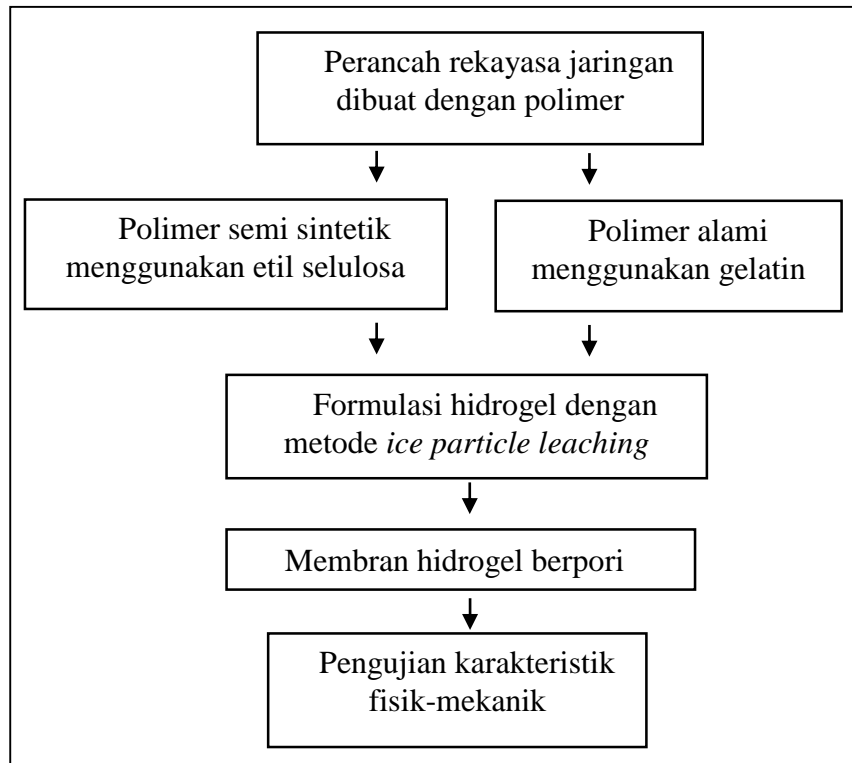
Rekayasa jaringan dipelajari untuk menumbuhkan fungsi sel, jaringan, dan organ buatan untuk menggantikan atau meningkatkan fungsi biologis yang rusak oleh abnormalitas bawaan, luka, penyakit atau penuaan (Pettersson, 2009). Pendekatan umum dalam teknologi rekayasa jaringan adalah melalui penanaman sel pada suatu perancah yang berperan sebagai substrat perlekatan bagi sel yang tidak mampu tumbuh sendiri.

Hidrogel merupakan suatu jaringan polimer hidrofilik yang telah mengalami *crosslink*, berbentuk tiga dimensi, tidak larut dalam air dan telah banyak digunakan untuk berbagai aplikasi biomedis (Pal *et al*, 2006). Hidrogel dapat dibuat menggunakan polimer sintetis maupun alami melalui ikatan silang antara

gugus-gugus yang terdapat pada polimer. Etil selulosa merupakan polimer semi sintetik derivat selulosa, sedangkan gelatin merupakan polimer alami. Metode yang digunakan untuk membuat perancah berpori 3D adalah *ice particle leaching*. Pori dibuat dengan mencampur larutan polimer dalam pelarut dengan butiran es, yang kemudian dilakukan pembekuan dan pelelehan membran hidrogel.

Suatu membran hidrogel berpori yang baik harus memiliki sifat dan karakteristik yang mirip dengan jaringan target. Membran hidrogel yang diperoleh dilakukan uji karakterisasi fisik-mekaniknya. Analisis organoleptik dilakukan untuk melihat gambaran fisik membran hidrogel secara visual. *Persen age swelling* menggambarkan kemampuan membran hidrogel dalam menyerap air atau cairan tergantung dari banyaknya jumlah ikatan silang yang terjadi antar polimer. *Weight loss* dilakukan untuk mengetahui waktu terdegradasinya membran hidrogel dalam tubuh. Semakin banyak ikatan silang yang terbentuk antara polimer menyebabkan nilai *weight loss* suatu membran hidrogel berpori semakin kecil dan kemampuannya bertahan dalam proses degradasi menjadi meningkat sehingga tidak mudah rusak ketika diaplikasikan ke dalam jaringan tubuh. UTS merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengukur kekuatan tarik membran hidrogel. Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bertahan membran hidrogel terhadap gaya tarik. Uji SEM dilakukan untuk mengetahui struktur/morfologi mikroskopisnya. Struktur morfologi atau pori yang terbentuk diharapkan dapat memberikan kontribusi sebagai tempat

perlekatan dan pertumbuhan sel. Skema kerangka konsep dapat dilihat pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Skema Kerangka Konsep

## I. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori di atas, dibuat suatu hipotesis, yaitu :

1. Kombinasi etil selulosa dengan gelatin dapat diformulasi menjadi membran hidrogel.
2. Membran hidrogel dengan kombinasi etil selulosa dengan gelatin memiliki karakteristik fisis dan mekanis yang cukup baik