

EFEK VARIASI COATING KITOSAN-GLUTARALDEHID TERHADAP KARAKTERISTIK *HOLLOW-FIBER POLY L-LACTIC ACID* (PLLA) SEBAGAI KANDIDAT PEMBULUH DARAH

Dio Nurdin Setiawan¹, Prihartini Widiyanti², Djoni Izak R.³

^{1,2,3}Departemen Fisika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya

ionurdin10@gmail.com

Abstract

World Health Organization (WHO) in 2010 has recorded around 30% of population in Indonesian died because of cardiovascular disease. The usage of synthetic blood vessels is one of the treatments in cardiovascular disease. The purpose of this research to determine the best glutaraldehyde concentration, characterization and understandable process. The synthesizing process of Poly-L-Lactid Acid (PLLA) hollow fiber coated with chitosan-glutaraldehyde as a blood vessel candidate used spinnerets and dip coating method. The result of the synthesizing process of poly L-Lactid Acid (PLLA) hollow fiber coated by glutaraldehyde-chitosan is characterized by morphology test, tensile test, cytotoxicity test, and hemolysis test. Morphology test result showed diameter size of hollow fiber between 3,062 mm – 3,572 mm which is suitable with diameter of synthetic blood vessels that can be used on heart blood vessels and pore size of Glutaraldehyde 0,01 M (2,101 - 5,973 μm) are close to the application of synthetic blood vessel of around 5 μm . The results of tensile test (14.12 MPa - 24 MPa), the highest value is found in glutaraldehyde 0.1 M which has tensile strength value of 24 MPa. Cytotoxicity test results showed percentage of live cells between 89.65% - 95.71%, the value indicates non hemolytic (<5%). Hemolysis test results showed between 0.73% - 2.95%. Based on those characteristics, hollow fiber Poly-L-Lactid Acid (PLLA) coating of chitosan-glutaraldehyde has potential as a candidate of blood vessels.

Key words : *Poly L – Lactic Acid, hollow-fiber, spinneret, glutaraldehyde, blood vessel*

Abstrak

Organisasi kesehatan dunia (WHO) tahun 2010 telah mencatat sekitar 30% jumlah penduduk di Indonesia meninggal akibat penyakit kardiovaskular. Penggunaan pembuluh darah sintesis merupakan salah satu penanganan pada penyakit kardiovaskular. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui konsentrasi glutaraldehyd terbaik, hasil karakterisasi dan memahami prosesnya. Proses pembuatan *hollow-fiber Poly L-Lactid Acid* (PLLA) *coating* kitosan-glutaraldehyd sebagai kandidat pembuluh darah dengan menggunakan metode *spinneret* dan *dip coating*. Hasil dari pembuatan *hollow fiber Poly L-Lactid Acid* (PLLA) *coating* kitosan-glutaraldehyd dilakukan karakterisasi (uji morfologi, uji tarik, uji sitotoksitas, dan uji hemolisis). Hasil dari uji tarik (14,12 MPa – 24 MPa), nilai tertinggi terdapat pada glutaraldehyd 0,1 M yang memiliki nilai kuat tarik 24 MPa. Hasil uji morfologi didapatkan ukuran diameter antara 3,062 mm – 3,572 mm dimana ukuran ini sesuai dengan diameter pembuluh darah sintetik yang dapat digunakan pada pembuluh darah jantung, serta ukuran pori glutaraldehyd 0,01 M (2,101 - 5,973 μm) mendekati nilai pembuluh darah sintesis aplikasi yaitu sekitar 5 μm . Hasil uji sitotoksitas didapatkan nilai persentase sel hidup antara 89,65% - 95,71%. Hasil uji hemolisis didapatkan nilai antara 0,73% - 2,95%

dimana nilai tersebut menunjukkan tidak hemolisis ($<5\%$). Berdasarkan hasil karakteristik pada penelitian ini, *hollow-fiber Poly L-Lactid Acid (PLLA) coating* kitosan-glutaraldehid memiliki potensi sebagai kandidat pembuluh darah.

Kata kunci: *Poly L – Lactic Acid, hollow-fiber, spinneret, glutaraldehid* pembuluh darah

1. PENDAHULUAN

Pada tahun 2010 organisasi kesehatan dunia (WHO) juga telah mencatat sekitar 30% jumlah penduduk di Indonesia yang meninggal akibat penyakit kardiovaskular, angka tersebut akan terus bertambah dikarenakan pola hidup yang kurang sehat, yaitu salah satunya budaya konsumsi *junk food* atau makanan cepat saji yang banyak mengandung bahan kimia tidak baik untuk tubuh. Dari beberapa kasus gangguan pada jantung salah satunya pada pembuluh darahnya. Adapun kelainan pembuluh darah salah satunya ialah penyempitan pembuluh darah diakibatkan tingginya LDL/kolesterol atau biasa disebut aterosklerosis (Rosyid, 2009). Aterosklerosis sendiri dalam dunia kesehatan di terapi dengan menggunakan obat, namun apabila telah parah dapat digunakan teknik rekayasa jaringan.

Berdasarkan data yang ada, penanganan kasus aterosklerosis dengan melalui operasi baik sten atau pembuluh darah buatan cukup tinggi. Upaya penanganan kasus aterosklerosis memiliki hasil yang kurang optimal karena banyak terjadi trauma lanjutan setelah penanganan tersebut. Oleh karena itu dibutuhkan pengembangan material alam atau material sintetis yang sesuai harapan sebagai pengganti pembuluh darah. Banyak material sintetis yang dapat digunakan sebagai pembuluh darah, salah satu kandidatnya dari golongan polimer. Polimer tersebut ialah *Poly L-Lactic Acid (PLLA)*.

Poly L-Lactic Acid (PLLA) merupakan salah satu biomaterial yang cukup baik sebagai aplikasi biomedis, benang bedah, *tissue engineering* dan *drug delivery systems* (Xiaojing *et al*, 2012). Pemanfaatan PLLA digunakan untuk mengatur laju biodegradasi pada vascular graft, serta pada PLLA sesuai dengan tes kultur sel pada aplikasi *stem cell* pembuluh darah (Pavia *et al*, 2010). Penambahan *coating* kitosan pada kandidat pembuluh darah ini ditujukan untuk meningkatkan sitokompatibilitas serta meningkatkan proliferasi dan *cell attachment* pada kandidat *vascular graft*. Dalam bidang kesehatan, kitosan memiliki kemampuan untuk menurunkan jumlah kolesterol, antikoagulan dalam darah serta digunakan sebagai agen anti bakteri (Wiyarsi, 2007). Penelitian tentang *hollow-fiber Poly L-Lactic Acid (PLLA)* menggunakan variasi glutaraldehid di sekitar *range* 0,01 dan 0,15 M yaitu 0,01 M; 0,05 M; 0,1 M; dan 0,15 M (Prabaharan, *et al*, 2006) untuk menghasilkan pembuluh darah yang lebih baik. Penambahan variasi glutaraldehid ini diharapkan berkontribusi pada perbaikan karakteristik pembuluh darah sintetis. Material kandidat pembuluh darah sintesis perlu dianalisis melalui uji mekanik dengan mengukur nilai kekuatan tarik, uji sitotoksitas dengan uji MTT Assay, uji struktur dari penampang pembuluh darah sintetis dengan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscope*), dan uji hemolisis untuk mengetahui reaksi darah dengan material pembuluh darah ini.

2. METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan untuk pembuatan *hollow-fiber Poly L-Lactic Acid (PLLA) coating* kitosan sebagai kandidat pembuluh darah dengan pengaruh variasi penambahan

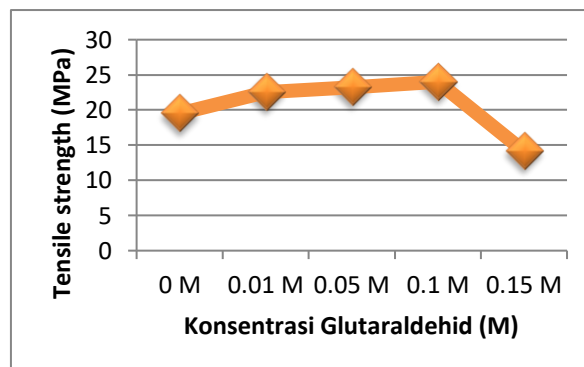
glutaraldehyd adalah PLLA produk *polysitech*, toluena, kloroform, kitosan, asam asetat, glutaraldehyd 25% *Merck*, aquades

Metode

Pembuatan sediaan untuk sampel *hollow-fiber* ini pertama diawali membuat campuran antara PLLA dan pelarutnya. 0,9 gr PLLA dalam larutan kloroform dan toluena (5:1) dengan memanfaatkan *magnetic stirrer* sampai PLLA larut dan sedikit kental. Pada pembuatan kitosan dengan penambahan variasi glutaraldehyd sebagai larutan *coating*, pertama 1 wt% kitosan dilarutkan dalam 1% asam asetat, lalu kitosan dilarutkan hingga homogen dengan *magnetic stirrer* selama kurang lebih 3 jam dengan suhu 25 °C. Variasi konsentrasi glutaraldehyd yang digunakan adalah 0,01 M (sampel B), 0,05 M (sampel C), 0,1 M (sampel D) dan 0,15 M (sampel E). PLLA *hollow-fiber* yang sudah jadi sebelumnya dicoatingkan dengan kitosan yang telah dicampur dengan glutaraldehyd dengan berbagai variasi persentase konsentrasi 0,01 M (sampel B), 0,05 M (sampel C), 0,1 M (sampel D) dan 0,15 M (sampel E). Metode *coating* yang digunakan ialah *dip coating* atau perendaman. Proses *coating* sekitar 30 menit, kemudian dikeringkan pada suhu 30° C.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

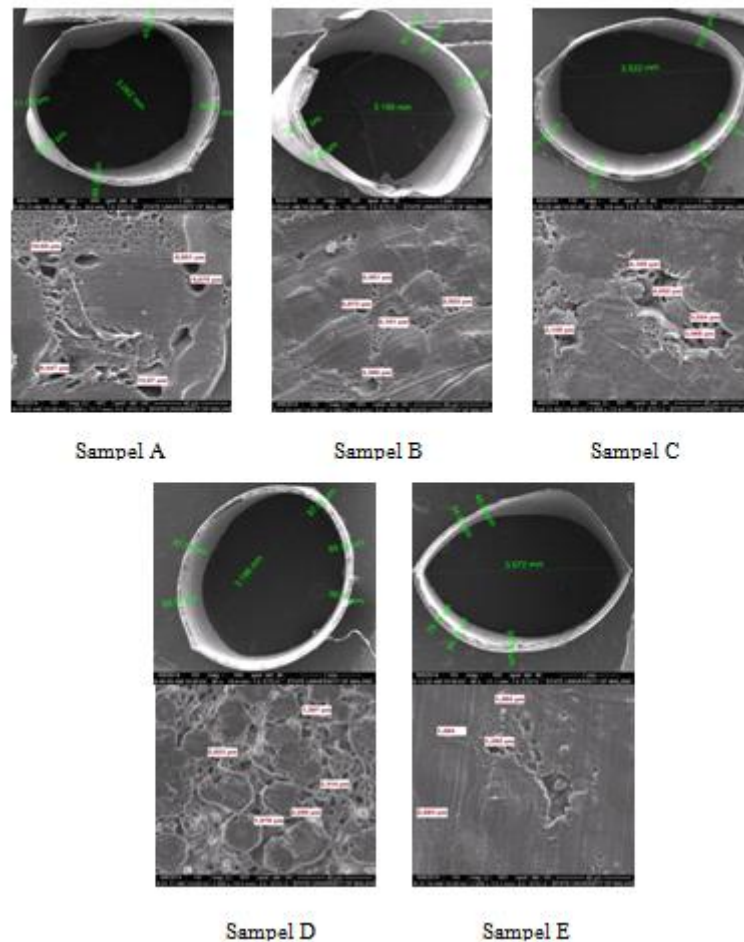
Pada penelitian ini, untuk mengetahui kekuatan tarik dari sampel *hollow-fiber* yang telah dibuat, maka perlu dilakukan uji *tensile strength* atau uji tarik.



Gambar 1. Grafik hubungan antara variasi konsentrasi glutaraldehyd dengan *tensile strength* pada *hollow-fiber* PLLA *coating* kitosan

Pada sampel A dapat dilihat setelah dilakukan pengujian, gaya tarik yang didapatkan atau *tensile strength* yang didapat yaitu 19,53 MPa, kemudian gaya tarik yang didapatkan pada sampel B, C dan D semakin meningkat yaitu 22,57 MPa, 23,25 MPa, dan 24 MPa. Pada sampel E gaya tarik didapati menurun yaitu 14,12 MPa. peningkatan variasi konsentrasi glutaraldehyd sebagai *crosslinker* mempengaruhi kekuatan tarik dari suatu material, dikarenakan pada proses ikatan kovalen dan ionik pada kitosan - glutaraldehyd hampir semuanya dapat berikatan silang sempurna serta terjadinya ikatan fisik larutan *coating* kedalam pori dari PLLA sesuai Prabakaran *et al*, (2006). Namun pada variasi glutaraldehyd 0,15 M hasil dari uji *tensile strength* menunjukkan nilai yang menurun. Hal ini dikarenakan pada sampel E telah mengalami ketidaksempurnaan ikatan silang sehingga saat proses uji tarik nilai yang dihasilkan menurun (Teoh, 2000).

Untuk mengetahui struktur morfologi dari sampel ini dilakukan pengujian *scanning electron microscope* (SEM).



Gambar 2. Hasil pengujian SEM dari sampel *hollow-fiber PLLA coating* kitosan-glutaraldehid dengan variasi konsentrasi glutaraldehid (A) 0 M (B) 0,01 M (C) 0,05 M (D) 0,1 M, dan (E) 0,15 M

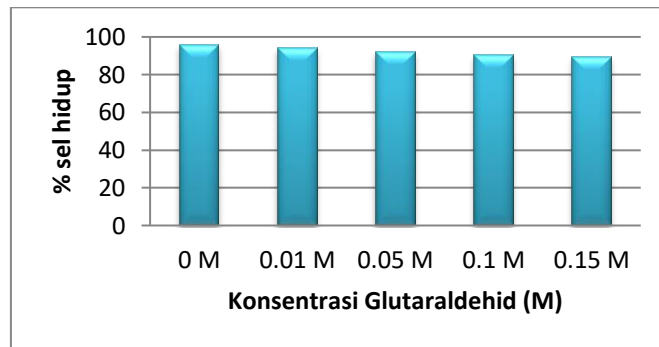
Berdasarkan hasil SEM didapatkan nilai ukuran diameter sampel A hingga E, pada diameter sampel A (0 M) tanpa pemberian konsentrasi glutaraldehid 3,062 mm. Pada sampel B dengan perlakuan variasi konsentrasi glutaraldehid 0,01 M hingga sampel E secara berurutan 0,05 M, 0,1 M dan 0,15 M memiliki hasil sekitar 3 mm. Menurut Zilla and Greisler tahun 1999, hasil ini sesuai dengan standar diameter pembuluh darah sintesis yang dapat diaplikasikan untuk pembuluh darah jantung ialah sekitar 3 - 4 mm.

Tabel 1. Hasil Pengukuran diameter sampel, diameter pori, dan ketebalan sampel *hollow-fiber PLLA coating* kitosan-glutaraldehid

Sampel	Variasi Konsentrasi Glutaraldehid	Diameter Sampel (mm)	Diameter Pori (μm)	Ketebalan Dinding (μm)
A	0 M	3,062	8,951 – 13,07	92,05
B	0,01 M	3,148	2,101 – 5,973	80,17
C	0,05 M	3,522	3,128 – 4,522	72,29
D	0,1 M	3,198	1,287 – 2,923	88,06
E	0,15 M	3,572	1,282 – 2,683	71,28

Menurut Zhang *et al* (2004), pada pembuluh darah sintesis memiliki ukuran pori terendah sekitar 5 μm , sehingga yang mendekati hasil terdapat pada sampel B yaitu 2,101 – 5,973 μm . Hasil dari struktur morfologi kelima sampel yang tersaji pada SEM, dapat terlihat bahwa morfologi ukuran pori dan diameter sampel sudah sesuai dengan pembuluh darah arteri yang dapat diaplikasikan

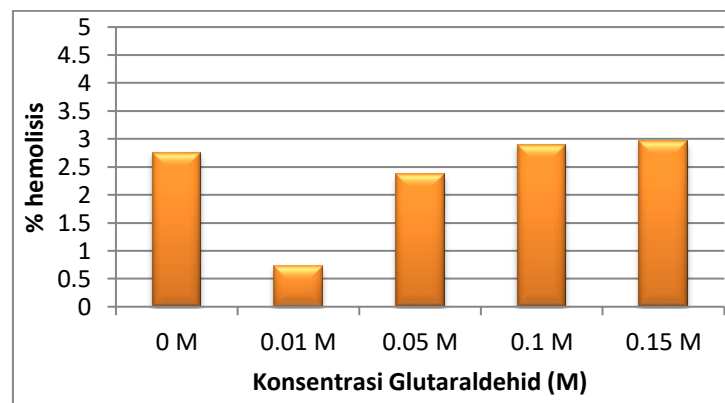
Untuk mengetahui nilai toksisitas terhadap suatu material dilakukan pengujian sitotoksitas atau uji MTT *assay* menggunakan sel fibroblast BHK-21 (*baby hamster kidney*).



Gambar 3. Grafik hubungan antara variasi konsentrasi glutaraldehyd dengan % sel hidup pada *hollow-fiber PLLA coating* kitosan

Pengujian sitotoksitas pada sampel A yang hanya dilakukan pemberian *coating* kitosan didapatkan persentase sel hidup 95,71%. Pada sampel dengan penambahan glutaraldehyd yaitu sampel B, C, D dan E didapatkan persentase sel fibroblas BHK- 21 hidup sebesar 94,06%, 92,29%, 90,60%, dan 89,65%. Persentase sel yang masih hidup setelah kontak dengan sampel melebihi 50% dengan *range* persentase sel hidup 89,65 – 95,71 %. Setelah proses pengujian sitotoksitas dari ke lima sampel menunjukkan hasil bahwa sampel tersebut tidak bersifat toksik, hal ini disimpulkan dari hasil persentase sel hidup lebih dari 50% (Spielmann, 2007).

Uji hemolisis ini bertujuan mengetahui reaksi hemoglobin apabila berinteraksi dengan material, apabila hemoglobin tersebut banyak yang lisis melebihi 5% maka material tersebut tidak baik apabila berinteraksi dengan darah (Hendershot *et al*, 2007)



Gambar 4. Grafik hubungan antara variasi konsentrasi glutaraldehyd dengan % hemolisis pada *hollow fiber PLLA coating* kitosan

Dari kelima sampel pada grafik membuktikan bahwa reaksi terhadap darah sangat baik, karena dari hasil persentase dapat dilihat sampel memiliki range 0,73 – 2,95. Pada sampel A tanpa penambahan glutaraldehid didapatkan persentase hemolisis 2,76 %. Sampel B dengan penambahan variasi glutaraldehid 0,01 M mendapatkan hasil 0,73 % dan sampel C dengan 0,05 M mendapatkan hasil 2,36 %. Untuk variasi 0,1 M dan 0,15 M pada sampel D dan E didapatkan, 2,89% dan 2,95 %. Dari hasil uji hemolisis diatas terjadi peningkatan hasil pada sampel yang diberi variasi konsentrasi glutaraldehid, hal ini dipengaruhi oleh penambahan glutaraldehid jika penambahan glutaraldehid berlebihan maka akan bersifat toksik. Dari sifat toksik tersebut dapat mengganggu dan merusak fungsi sel-sel didalam tubuh, salah satunya sel darah merah. Sampel yang digunakan saat berinteraksi dengan darah dapat dikatakan sangat baik dikarenakan hasil persentase dibawah 5% sehingga dapat diaplikasikan sebagai pembuluh darah sintesis, hal ini juga membuktikan bahwa dengan variasi glutaraldehid hingga 0.15 M, sampel masih *free hemolytic* (Hendershot *et al*, 2007).

4. KESIMPULAN

Penambahan variasi konsentrasi glutaraldehid terhadap *hollow-fiber PLLA coating* kitosan dalam uji *tensile strength* dapat meningkatkan kekuatan tarik seiring penambahan variasi konsentrasi glutaraldehid (19,53 – 24,00 MPa) pada pemberian 0 – 0,1 M dan menurun pada pemberian 0,15 M (14,12 MPa). Pada uji morfologi ukuran pori semakin kecil dan rapat sesuai dengan penambahan variasi, diameter *hollow-fiber* yang terbentuk telah sesuai dengan diameter pembuluh arteri yaitu 3 mm. Uji sitotoksitas melalui uji MTT *Assay*, kelima sampel memiliki hasil di atas 50% dengan *range* 89,65 – 95,67%, yang menunjukkan bahwa *hollow-fiber PLLA coating* kitosan-glutaraldehid ini tidak toksik sehingga dapat berinteraksi dengan sel didalam tubuh dengan baik. Pada interaksinya dengan darah melalui uji hemolisis menunjukkan nilai 0,73 – 2,95 %, yang merujuk pada nilai hemolisis yang sangat baik sebagai kandidat pembuluh darah sintesis karena dibawah 5%.

DAFTAR PUSTAKA

- Hendershot, Michael D. Melly, F. Corfo, B S. 2007. *ASTM Hemolysis*. NAMS, Washington Pavia, Francesco Carfi. Salvatrice, R. Vincenzo, L C. Gianluca, A M. Giulio, G. Valerio, B. 2012. *Poly Lactic Acid Based Scaffolds for Vascular Tissue Engineering*. AIDIC, DOI: 10.3303/CET1227069
- Prabakaran, M. M, A Rodriguez-Perez.J, A de Saja. J. F Mano. 2006. *Preparation and Characterization of Poly (L-Lactic Acid)-Chitosan Hybrid Scaffold With Drug Release Capability*. Wiley InterScience DOI 10;1002/jbm.b.30680.
- Rosyid, Fahrur Nur. 2009. Peranan Lipoprotein Terhadap Terjadinya Aterosklerosis pada Arterikoronaria. Surabaya : Universitas Muhammadiyah Surabaya.
- Spielmann, H. Hoffmann, S. Botham, P. Roguet, R. Jones, P. 2007. *The ECVAM International Validation Study on In Vitro Tests for Acute Skin Irritation: Report on the Validity of the EPISKIN and EpiDerm Assays and on the Skin Integrity Function Test*. Germany: ATLA.
- Teoh, S H. 2000. *Fatigue of Biomaterial : a Review*. International Journal of Fatigue 22 (2000) 825–837

- Wiyarsi, Antuni. Erfan, Priyambodo. 2007. *Pengaruh Konsentrasi Kitosan dari Cangkang Udang Terhadap Efisiensi Penyerapan Logam Berat*. Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Matematika dan IPA, Universitas Negeri Yogyakarta.
- Xiaojing, Zhang. Chaojun, Wang. Shaoming, Fang. Jiashu, Sun. Chong, Li. Yuelei, Hu. 2012. *Synthesis and Characterization of Well-defined Star PLLA with a PEG Core and Their Microspheres for Controlled Release*. *Colloid Polym Sci*, 2013; 291:789-803
- Zilla, Peter. Greisler, Howard P. 1999. *Tissue Engineering of Vascular Prosthetic Grafts*. R G Landes Company. Austin, Texas USA