

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Tissue engineering adalah suatu ilmu pengetahuan yang mencakup bidang biologi, medis dan *engineer* yang digunakan untuk meningkatkan kesehatan dan kualitas hidup manusia dengan mengembalikan, menjaga, atau menambah fungsi jaringan dan organ.¹ Cabang ilmu pengetahuan ini banyak digunakan untuk aplikasi estetik, pengobatan modern segala bidang, termasuk di bidang kedokteran gigi. *Tissue engineering* termasuk salah satu teknik yang paling dikembangkan di luar negeri, namun sayangnya kurang berkembang di Indonesia. Hal ini dapat disebabkan karena keterbatasan alat dan kurangnya pengertian masyarakat mengenai bidang tersebut dan kegunaannya dalam kehidupan sehari-hari, namun hal tersebut harus ditanggulangi. Indonesia diharapkan dapat memberikan kontribusi kepada dunia dalam pembuatan obat ataupun *regenerative medicine* dengan adanya sumber nabati dan hewani yang berlimpah, selain itu Indonesia juga harus mampu memasuki era globalisasi di mana dapat memproduksi bahan solusi yang lebih ramah lingkungan, lebih hipoalergenik terhadap manusia dan lebih natural serta dapat dijangkau oleh masyarakat.²

Tissue Engineering memiliki salah satu komponen penting, yang dikenal dengan *scaffold*. *Scaffold* merupakan suatu *template* yang berfungsi untuk mendukung pembentukan regenerasi jaringan dengan menunjang perlekatan sel.

Scaffold yang ideal memiliki sifat-sifat sebagai berikut antara lain, memiliki sifat mekanis yang sesuai dengan jaringan yang akan digantikan, biokompatibel, *bioresorbable*, memiliki tingkat degradasi yang sama dengan formasi jaringan baru, memiliki karakteristik permukaan yang mempermudah perlekatan, pertumbuhan, proliferasi dan differensiasi sel serta mampu mencetuskan pembentukan ekstraseluler matriks, memiliki karakteristik struktur yang optimal dalam hal ukuran pori-pori, porositas, interkonetivitas pori-pori, serta permeabilitas yang nantinya dapat mempermudah penyampaian nutrisi. *Scaffold* yang ideal dapat diperoleh dari bahan-bahan dasar biomaterial.^{3,4,5,6}

Biomaterial, seperti benang laba-laba (*spider silk*) telah menarik perhatian banyak peneliti karena memiliki karakteristik yang unggul dan unik dibandingkan material lainnya. Benang laba-laba memiliki resiliensi, elastisitas dan *tensile strength* sejajar atau lebih tinggi dari material metalik dan non metalik pada umumnya, serta dibutuhkan energi yang lebih untuk memutuskan benang laba-laba dibandingkan baja kevlar. Benang laba-laba juga telah dikenal memiliki sejarah karakteristik medis yang dapat ditelusuri hingga zaman Yunani kuno, di mana pada zaman tersebut benang laba-laba telah banyak digunakan sebagai *wound dressing*. Penelitian tentang laba-laba mulai berkembang dengan pesat, terutama laba-laba *Nephila clavipes* yang berdomisili di di Amerika Utara dan Selatan pada abad 20. Penelitian mengenai laba-laba ini berpusat pada banyak hal, baik ekologi dan cara berkembang biak laba-laba, sifat mekanis benang laba-laba ataupun rekeyasa genetik protein benang laba-laba. Laba-laba spesies *Nephila clavipes* diteliti dan telah berhasil diproduksi ulang menjadi *scaffold*. Penelitian

interaksi *scaffold* dari *Nephila clavipes* ini dengan sel fibroblast membuahkan hasil yang sesuai harapan, di mana perlekatan, proliferasi dan migrasi sel fibroblast berlangsung dengan baik. Sel- sel fibroblast terlihat hidup pada hari ketiga setelah penanaman sel melalui *Live/Dead assay*. Tes sitokompabilitas dan uji mekanis yang telah diuji membuktikan bahwa benang laba-laba dapat digunakan sebagai *scaffold*. Penelitian Macintosh et al pada tahun 2006, menggunakan *egg sac silk* laba-laba *Nephila edulis* juga berhasil meregenerasi *hyaline-like cartilage*, sehingga dapat disimpulkan bahwa benang laba-laba memiliki potensi sebagai *scaffold* untuk *tissue engineering* kartilago.^{7,8}

Laba-laba *Nephila pilipes*, yang masih satu genus dengan laba-laba *Nephila clavipes*, banyak ditemukan di Asia Tenggara, seperti Cina, Indonesia hingga Australia. Laba-laba spesies *Nephila p.* diharapkan memiliki karakteristik mekanis dan medis yang mirip dengan *Nephila c.* Keberadaan laba-laba *Nephila p.* yang berlimpah di Indonesia, khususnya di Jawa Barat, diharapkan selain dapat mempermudah pengumpulan benang laba-laba sebagai bahan dasar untuk pembuatan *scaffold*, juga dapat memberikan solusi pengobatan baru yang aman dan murah bagi masyarakat di sekitar.⁹

Benang laba-laba dapat diproses menjadi *scaffold* berporus 3-dimensi dengan berbagai cara, salah satunya menggunakan teknik *electrospinning*. Teknik *electrospinning* berpusat pada penggunaan tegangan tinggi dan memiliki kemampuan untuk memproduksi fiber. Teknik *electrospinning* ini diharapkan dapat merubah topografi fisik dari benang laba-laba *Nephila pilipes* yang natural menjadi lembaran mikrofiber. *Scaffold* hasil *electrospinning* akan diuji morfologi

dan ukurannya dengan uji karakteristik SEM serta struktur organiknya dengan uji karakteristik FTIR. *Scaffold* hasil *electrospinning* juga akan diuji sensitivitasnya terhadap bakteri, di mana hasil dari ketiga pengujian tersebut akan memberikan informasi awal dari serangkaian penelitian berikutnya mengenai kemungkinan penggunaan benang laba-laba *Nephila pilipes* dalam aplikasi klinis sebagai *scaffold*.^{10,11,12,13}

1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, dapat diidentifikasi masalah-masalah sebagai berikut:

1. Apakah modifikasi menggunakan teknik *electrospinning* mampu merubah morfologi alami benang laba-laba *Nephila pilipes* dengan menghasilkan lembaran mikrofiber yang memiliki interkoneksi yang cukup sebagai *scaffold*?
2. Apakah modifikasi benang laba-laba *Nephila pilipes* dengan teknik *electrospinning* mampu menghasilkan lembaran mikrofiber yang memiliki karakteristik fisik dan gugus kimia yang sama dengan benang laba-laba alami serta menunjang sebagai *scaffold*?
3. Apakah modifikasi benang laba-laba *Nephila pilipes* dengan teknik *electrospinning* mampu menghasilkan lembaran mikrofiber yang memiliki sifat antibakteri?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1. Maksud penelitian

Maksud penelitian ini adalah untuk mengetahui dan mengembangkan ilmu dan teknik material kedokteran gigi di bidang *tissue engineering* khususnya dalam sintesis *scaffold* berbahan biomaterial.

1.3.2. Tujuan penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui perubahan morfologi benang laba-laba *Nephila pilipes* melalui teknik *electrospinning* menjadi lembaran mikrofiber dengan interkoneksi fiber yang cukup sebagai *scaffold*.
2. Mengetahui morfologi dan gugus kimia lembaran mikrofiber hasil *electrospinning* melalui SEM (*Scanning Electron Microscope*) dan FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*).
3. Mengetahui sifat antibakteri lembaran mikrofiber hasil *electrospinning* melalui uji antibakteri metode difusi lempengan agar.

1.4 Manfaat Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini terdiri dari kegunaan ilmiah dan kegunaan praktis yang akan diuraikan sebagai berikut:

1.4.1 Kegunaan Ilmiah

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan material kedokteran gigi dengan

menyumbangkan pengetahuan mengenai pembuatan *scaffold* tiga dimensi berbahan benang laba-laba sebagai *template* untuk perlekatan sel.

1.4.2 Kegunaan Praktis

Pembuatan *scaffold* tiga dimensi berbahan benang laba-laba diharapkan dapat menjadi harapan baru dan alternatif dari masalah kebutuhan masyarakat akan bahan pengobatan regenerasi jaringan yang cukup mudah didapat dengan memanfaatkan biomaterial dari sumber alam indonesia yang melimpah.

1.5 Kerangka Pemikiran dan Hipotesis

Tissue engineering merupakan perkembangan dan manipulasi molekul, sel, jaringan, organ di laboratorium yang berfungsi untuk menggantikan atau mendukung fungsi tubuh yang terluka atau cacat.¹⁴ *Tissue Engineering* memiliki beberapa komponen penting yang salah satunya adalah *scaffold*, suatu matriks atau pendukung jaringan yang dapat dibuat dari berbagai tipe material, seperti polimer natural dan sintentik serta substansi inorganik yang berfungsi untuk menggantikan, memperbaiki atau meregenerasi jaringan. Bentuk *scaffold* dapat disesuaikan dengan fungsi serta lokasi jaringan yang akan diregenerasi. Ukuran *scaffold* sangat beragam, hal ini dipengaruhi oleh bahan yang digunakan serta metode pembuatannya. Para peneliti menyebutkan bahwa, *scaffold* yang terdiri dari mikrofiber dapat menyediakan banyak area perlekatan untuk reseptor sel membran sehingga membantu memfasilitasi penyebaran sel yang lebih mirip dengan ekstraseluler natural. Pembuatan *scaffold* mikrofiber dapat dicapai, salah satunya dengan teknik *electrospinning*.^{2,15,16,17}

Electrospinning merupakan salah satu metode pembuatan fiber dengan menggunakan aplikasi tegangan tinggi, di mana larutan polimer yang dikeluarkan dari *syringe* akan membentuk fiber ukuran nano atau mikron di atas kolektor. Teori dasar *electrospinning* yang ditemukan oleh Sir Geoffrey Ingram Taylor, antara tahun 1964 dan 1969, berpusat pada model matematis dari bentuk kerucut (*cone*) yang dibentuk oleh tetesan cairan (*fluid droplets*) yang berada di bawah pengaruh medan listrik. Karakteristik kerucut ini kerap dikenal dengan *Taylor cone*. Beberapa kumpulan peneliti pada awal tahun 1990, terutama Reneker, mempopulerkan metode *electrospinning* dengan mendemonstrasikan bahwa banyak polimer organik dapat di proses menjadi mikrofiber dan sejak itu, publikasi mengenai *electrospinning* telah meningkat dengan drastis setiap tahunnya.¹²

Saat ini *electrospinning*, telah dikenal sebagai teknik yang simpel serta efisien dalam pembuatan fiber dengan ukuran nano atau mikron dari berbagai material, termasuk polimer, komposit dan keramik. Perkembangan penelitian-penelitian di atas menunjukkan *electrospinning* merupakan metode yang telah diuji berabad-abad, aman serta stabil untuk digunakan dalam penelitian-penelitian modern. Kelebihan *electrospinning* lainnya terletak pada kemampuan memproduksi mikro hingga mikrofiber dalam jumlah yang banyak dengan bahan mentah (*raw material*) yang sedikit. Metode *electrospinning* ini dapat digunakan untuk memproduksi fiber secara masal, hal ini mengurangi biaya dan waktu produksi. Alat *electrospinning* saat ini juga telah dimiliki oleh berbagai lembaga penelitian,

pendidikan dan industri di berbagai daerah di Indonesia, karena itu akses penggunaannya pun lebih luas.¹⁶

Selama dua dekade terakhir, ahli biologi dan ahli material telah meneliti benang laba-laba sebagai material alami molekular yang berpotensi. Benang laba-laba memiliki kualitas mekanis yang menarik, yaitu *tensile strength* yang tinggi, kemampuan untuk meregang, elastisitas dan *shape memory*, selain itu juga telah terbukti memiliki karakteristik piezoelektrik dan stabilitas di berbagai suhu. Benang laba-laba ini digunakan sebagai bahan dasar pembuatan *scaffold* tiga dimensi untuk regenerasi tulang dan menjadi bahan alternatif karena sifat alaminya yang *degradable*, di mana ketika dilekatkan dengan organ lain akan bersatu tanpa meninggalkan sisa, serta memiliki karakteristik viskoelastisitas yang mirip dengan tulang manusia. *Scaffold* dengan biomaterial ini memiliki interkoneksi fiber yang mempermudah perlekatan sel-sel serta vaskularisasi sehingga dapat mempercepat penyembuhan atau regenerasi tulang ke bentuk yang normal. Beberapa jurnal dan penelitian telah menyatakan bahwa benang laba-laba memiliki sifat antibakteri dan memiliki presentase yang kecil dalam mencetuskan alergi. Hal ini disebabkan karena benang laba-laba tidak memiliki protein adesif (*sericin*) seperti pada larva *Bombyx mori* (ulat sutera). Karakteristik-karakteristik mekanis yang sangat ideal ini membuat benang laba-laba dapat memperkuat struktur *scaffold* tiga dimensi. Laba-laba *Nephilia pilipes* merupakan salah satu spesies golongan laba-laba penenun benang emas (*golden orb web spiders*) yang banyak ditemukan di Indonesia. Laba-laba ini biasa disebut sebagai laba-laba hutan dan dapat ditemukan di Bengkulu, Bali, Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa

Timur, dan Papua. Keberadaan laba-laba *Nephila pilipes* yang melimpah ini dapat memberikan kemudahan dalam pengumpulan biomaterial, sehingga dapat mempermudah pembuatan *scaffold* tiga dimensi.^{9,18}

Uji karakterisasi *scaffold* menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscope*) dan FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) sangat penting sebagai penelitian awal untuk menunjang pembuatan *scaffold*. Kedua karakterisasi ini sering dipakai dan dikenal juga sebagai uji dasar dari suatu material. Uji karakterisasi SEM, yang menggunakan cahaya energi elektron, sering dipakai sebagai tes dasar karena berfungsi untuk mempelajari morfologi dan dimensi dari permukaan material dengan perbesaran 100 kali hingga 10.000 kali. Fungsi inilah yang sangat membantu para peneliti untuk dapat menganalisis topografis fisik dari suatu material baru. Karakteristik FTIR menggunakan radiasi infrared yang diberikan ke sampel, yang nantinya sebagian akan diserap oleh sampel dan sebagian ditransmisikan. Hasil uji karakterisasi FTIR ini digunakan untuk menganalisa senyawa kimia dari suatu material baru. Fungsi FTIR pada penelitian ini ditujukan untuk membandingkan struktur kimiawi benang laba-laba *Nephila pilipes* dengan *scaffold* hasil *electrospinning*. Kedua alat uji karakterisasi ini telah dimiliki oleh berbagai lembaga pendidikan dan penelitian di Indonesia, sehingga mudah dijangkau baik untuk mahasiswa ataupun peneliti.^{10,11}

Uji antibakteri *scaffold* dengan menggunakan metode difusi lempengan agar merupakan penelitian tambahan dalam menunjang pembuatan *scaffold*. Uji antibakteri pada *scaffold* dilakukan berdasarkan penelitian antibakteri benang

laba-laba terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* melalui difusi lempengan agar yang telah terbukti. Keuntungan dari metode ini yaitu merupakan teknik yang paling umum dan sering digunakan, karena mudah dan sederhana. Fungsi uji antibakteri pada penelitian ini yaitu untuk mengetahui sifat antibakteri dari *scaffold* hasil *electrospinning*. Penelitian ini menggunakan cakram kertas di mana dapat menentukan apakah bakteri resisten atau peka terhadap *scaffold* hasil *electrospinning* dengan mengukur zona hambat pertumbuhan bakteri.^{13,19}

1.6 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif. Jumlah sampel yang digunakan adalah lima sampel. Sampel akan digunakan untuk uji karakteristik SEM dan FTIR, serta uji antibakteri metode difusi lempengan agar.

1.7 Lokasi dan Waktu Penelitian

Persiapan penelitian dilakukan di Laboratorium Pemrosesan Material, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Bandung, pada Desember 2013. Penelitian dilakukan di Laboratorium PT. Badan Tenaga Nuklir Nasional (PT.BATAN), lingkungan PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang Selatan dan Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha, Bandung pada Desember 2013- Februari 2014.