

OPTIMASI FORMULASI DAN KARAKTERISASI MEMBRAN HIDROGEL BERPORI BERBASIS KOMBINASI CHITOSAN DAN GELATIN DENGAN METODE GAS FOAMING SEBAGAI PERANCAH DALAM PENGEMBANGAN REKAYASA JARINGAN LUNAK

Dini Hayatur Rodiyah* Ingenida Hadning* Dian Purwita Sari*
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta*
Dinihayaturrodiyah@yahoo.co.id

INTISARI

Kemajuan teknologi saat ini terus berkembang seiring dengan kemajuan di berbagai bidang ilmu. Salah satu bidang ilmu yang berkembang pesat adalah di dunia medis. Strategi terkini dalam pengobatan regeneratif terfokus pada struktur jaringan yang rusak melalui teknologi rekayasa jaringan. Perancah merupakan salah satu komponen dalam rekayasa jaringan untuk membantu memperbaiki, mempertahankan atau meningkatkan fungsi jaringan. Salah satu material yang digunakan sebagai perancah adalah kombinasi chitosan dan gelatin yang memiliki biokompatibilitas dan biodegradabilitas yang baik untuk mempertahankan struktur dan fungsi jaringan serta merupakan polimer alami sehingga menghasilkan permukaan yang optimal untuk perlekatan sel secara alami. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan membran hidrogel kombinasi chitosan dan gelatin dengan metode *gas foaming*, mengetahui karakteristik fisik-mekanik membran yang dihasilkan dan mengetahui formula terbaik dari hasil formulasi.

Pembuatan membran hidrogel berpori dilakukan menggunakan metode *gas foaming*. Formulasi membran hidrogel berpori dibuat dalam tiga formula dengan variasi perbandingan jumlah asam sitrat dan natrium bikarbonat sebagai agen pembentuk pori secara berturut-turut adalah Formula (F) 1 (50 mg : 150 mg), F2 (25 mg : 75 mg) dan F3 (12,5 mg : 37,5 mg). Selanjutnya membran hidrogel dievaluasi karakteristiknya berdasarkan konstanta elastisitas dan UTS (*Ultimate Tensile Strength*), nilai persen *age swelling*, *weight loss*, serta gambaran morfologi permukaan membran menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscope*).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi chitosan dan gelatin dapat difabrikasi menjadi membran hidrogel berpori dengan metode *gas foaming*. Hasil konstanta elastisitas menunjukkan sebuah pola $F1 < F2 < F3$ dengan F3 memiliki nilai k paling tinggi sebesar $103,84 \times 10^3 \text{ N/m} \pm 20,3 \times 10^3 \text{ N/m}$ dan nilai UTS tidak terbentuk pola spesifik dimana F3 memiliki nilai paling tinggi yaitu 0,0875 MPa. Nilai persen *age swelling* tidak menunjukkan pola spesifik dimana F2 memiliki presentase nilai paling tinggi yaitu $15\% \pm 4,1632\%$. Nilai *weight loss* pada $t=15$ menit membentuk sebuah pola yaitu $F3 < F2 < F1$ dimana F3 memiliki nilai paling rendah sebesar $0,5468 \pm 0,0554$ dan pada $t=30$ menit menunjukkan pola yang sama $F3 < F2 < F1$ dimana nilai *weight loss* terendah pada F3 sebesar $0,0631 \pm 0,0633$. Hasil pengamatan menggunakan SEM menunjukkan terbentuknya pori dengan ukuran paling kecil $0,0280 \mu\text{m}$ dan paling besar $1,076 \mu\text{m}$ pada perbesaran 5000 kali. Formula 3 merupakan formula terbaik hasil uji karakteristik. Karakteristik fisik-mekanik membran hidrogel tersebut perlu ditingkatkan untuk tujuan aplikasi rekayasa jaringan.

Keyword : Chitosan, Gelatin, *Gas foaming*, Perancah, Rekayasa Jaringan.

PENDAHULUAN

Kemajuan teknologi saat ini terus berkembang seiring dengan kemajuan di berbagai bidang ilmu. Salah satu bidang ilmu yang berkembang pesat adalah di dunia medis. Kebutuhan medis terus meningkat disebabkan semakin sadarnya manusia pada kesehatan. Strategi terkini dalam pengobatan regeneratif terfokus pada struktur jaringan yang rusak melalui teknologi rekayasa jaringan. Bidang keilmuan ini berkembang pesat selama 10 tahun terakhir dan dapat meregenerasi hampir setiap jenis jaringan dan organ dalam tubuh manusia. Berbagai jaringan dapat diperbaiki secara aman dengan terapi ini (Chiang *et al*, 2009; Haleem *et al*, 2009).

Rekayasa jaringan merupakan cabang ilmu kedokteran untuk memperbaiki, mempertahankan atau meningkatkan fungsi jaringan atau seluruh organ. Rekayasa jaringan muncul sebagai metode baru yang melibatkan tiga komponen yaitu sel, agen bioaktif dan perancah (Chen *et al*, 2002; Solchaga *et al*, 2001). Perancah didefinisikan sebagai biomaterial padat berpori berbentuk tiga dimensi yang memiliki beberapa fungsi, antara lain : (1) mendukung interaksi sel, interaksi biomaterial dan perlekatan sel, (2) memungkinkan proses transport yang memadai bagi gas, nutrisi, dan faktor regulasi untuk mendukung pertahanan, pembelahan

dan diferensiasi sel, (3) terurai secara biologis dengan kecepatan terkendali yang sesuai dengan kecepatan regenerasi jaringan, dan (4) meminimalkan kemungkinan inflamasi atau toksisitas *in vivo* (Langer dan Tirell, 2004).

Pemilihan perancah penting untuk menghasilkan jaringan dan organ yang sesuai dengan bentuk serta ukuran yang diinginkan. Berbagai macam teknik fabrikasi yang dapat digunakan untuk mendesain perancah pada aplikasi rekayasa jaringan seperti *particulate leaching*, *gas foaming*, *electrospinning*, *self assembly*, *membrane lamination* dan *freeze drying*. Teknik *gas foaming* merupakan teknik yang menggunakan tekanan tinggi dari gas karbon dioksida untuk membuat pori pada perancah sehingga membentuk struktur tiga dimensi pori (perancah) setelah proses *foaming* selesai (Mooney *et al*, 1996).

Beberapa karakteristik dari perancah yang harus dipenuhi seperti biokompatibilitas (Ma dan Langer 1999), sifat mekanik yang memadai agar dapat mempertahankan struktur dan fungsi jaringan (Kim *et al*, 2000) dan dapat mengedalikan biodegradabilitas untuk membantu pembentukan jaringan baru (Cima *et al*, 1991; Kweona *et al*, 2003). Salah satu jenis material yang memiliki karakteristik sesuai untuk perancah dan berpotensi dalam teknologi rekayasa jaringan adalah golongan

polimer, baik polimer alami atau sintetik. Menurut berbagai literatur, jenis polimer yang dapat dikembangkan yaitu kelompok polimer *polyactic acid* (Mikos *et al*, 1994), *poly glycolic acid* (Mooney *et al*, 1996), *polyethylene glycol* (Jeong *et al*, 1999), chitosan (Malafaya *et al*, 2005) dan berbagai polimer lainnya (Odelius *et al*, 2008).

Chitosan merupakan salah satu polimer alami turunan dari kitin. Chitosan telah diteliti untuk berbagai aplikasi rekayasa jaringan karena memiliki biokompatibilitas yang baik, biodegradabilitas, toksisitas dan imunogenisitas rendah (Jayakumar *et al*, 2007; Rinaudo, 2008). Gelatin adalah polimer yang dibuat secara alami dari kolagen yang merupakan komponen matriks ekstrasel dan memiliki karakteristik fisik-mekanik yang

baik (Chang *et al*, 2003). Perancah berbahan gelatin pertama digunakan untuk membantu regenerasi syaraf tepi (Chiono *et al*, 2009). Kombinasi chitosan dan gelatin sebagai suatu komposit perancah diharapkan dapat memberikan performa yang lebih baik dibandingkan perancah berbahan tunggal dari segi manfaat dan keamanan.

Penelitian ini bertujuan untuk membuat membran hidrogel berpori menggunakan kombinasi chitosan dan gelatin yang difabrikasi dengan metode *gas foaming*, mengetahui karakteristik fisik-mekanik membran hidrogel yang dihasilkan dan mengetahui formula terbaik dari hasil formulasi dan uji karakteristik membran hidrogel.

METODE PENELITIAN

Alat. gelas beker (Pyrex® IWAKI), gelas ukur (Pyrex® IWAKI), cawan petri, spatula, dan tabung reaksi (Pyrex® IWAKI), pipet ukur, pipet tetes, timbangan analitik (Mettler Toledo), pemanas/kompur listrik, hot plate (Barnstead International), pinset, *water bath* (Memmert), *Universal Testing Machine*, SEM (*Scanning Electron Microscope*).

Bahan. Chitosan (PT. Biotech Surindo *pharm grade*), Gelatin (PT. Brataco *pharm grade*), NaHCO₃, asam sitrat, aquadest (CV.

General Labora), NaOH, asam asetat glasial, metil paraben (PT. Brataco), propil paraben (PT. Brataco), NaCL fisiologis (PT. Otsuka).

Formulasi membran hidrogel berpori. Formulasi membran hidrogel kombinasi chitosan dan gelatin dilakukan dengan beberapa perbandingan komposisi campuran asam sitrat dan natrium bikarbonat sebagai agen pembentukan pori (pembentukan busa gas) seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan Jumlah Komponen

^a F	Komponen				
	^b C+ BA (1%)	^c G (g)	^d As (mg)	^e N (mg)	^f A (ml)
1	10 mL	3	50	150	5
2	10 mL	3	25	75	5
3	10 mL	3	12,5	37,5	5

Keterangan: ^aformula, ^bChitosan+buffer asetat, ^cgelatin, ^dasam sitrat, ^eNaHCO₃, ^faquades

Chitosan dilarutkan dengan buffer asetat dan dipanaskan di atas hot plate suhu 50°C dalam keadaan konstan. Jumlah gelatin dari formula dibagi menjadi dua bagian dalam preparasi: (1) asam sitrat dilarutkan dengan aquadest panas, kemudian ditambahkan kombinasi larutan metil dan propil paraben 0,1% dalam etanol 96%. Setelah itu dicampurkan dengan sebagian gelatin, (2) natrium bikarbonat dilarutkan dengan aquadest panas pada suhu 80°C dan ditambahkan kombinasi larutan metil dan propil paraben, selanjutnya dicampurkan dengan sebagian gelatin lainnya. Semua bahan selanjutnya dicampur secara homogen kemudian dicetak pada cawan petri dan dikeringkan pada suhu ruang selama 7 hari hingga membentuk membran berpori.

Uji karakteristik fisik-mekanik membran hidrogel.

Uji kekuatan tarik (*tensile strength*). Uji kekuatan tarik (*tensile strength*) menggunakan *Universal Testing Machine*. Parameter pengukuran menggunakan tingkat

elastisitas bahan (k) dalam g/mm yang dikonversi menjadi konstanta elastisitas (N/m) dan nilai gaya putus bahan (F) dikonversi menjadi *Ultimate Tensile Strength* (UTS). Besarnya UTS dapat dihitung menggunakan persamaan 1 yaitu gaya putus (F) dalam N per satuan luas penampang (A) dalam m².

$$\sigma = \frac{F}{A} \dots\dots\dots(1)$$

Uji persen *age swelling*. Langkah yang dilakukan dengan melarutkan membran hidrogel kedalam NaCl fisiologis. Membran hidrogel ditimbang sebagai berat kering (Wd) diletakkan ke dalam *test tube*. Setelah itu 1,0 mL NaCl fisiologis ditambahkan ke dalam tube dan diinkubasi pada suhu 37°C. Setelah sampel dikeluarkan dari inkubator, NaCl dibuang dan membran dibilas menggunakan aquades. Membran diletakkan diatas tissue untuk menghilangkan air sebelum ditimbang sebagai berat basah (Ws). Persen *age swelling* dapat dihitung menggunakan persamaan 2.

$$\% S = \frac{ws - wd}{wd} \times 100 \dots\dots\dots(2)$$

Uji *weight loss*. Langkah yang dilakukan dengan menimbang berat membran saat t =0 kemudian direndam didalam NaCl fisiologis dengan suhu 37°C pada interval waktu 15 dan 30 menit. Sampel kemudian dikeringkan dan ditimbang sebagai berat kering dengan t=n, n merupakan waktu

perendaman pada 15 dan 30 menit. *weight loss* dihitung menggunakan persamaan 3.

$$\text{weight loss} = \frac{wd(t=0) - wd(t=n)}{wd(t=0)} \dots\dots\dots(3)$$

SEM (Scanning Electron Microscope). SEM digunakan untuk memberikan gambaran morfologi atau struktur mikroskopis dari membran hidrogel. Pengamatan dilakukan di LPPT UGM.

ANALISIS DATA

Analisis data dilakukan secara kuantitatif menggunakan metode statistik uji analisis SPSS parametrik (ANOVA satu jalur) dan non parametrik (*Kruskal Wallis Test, Mann Whitney*).

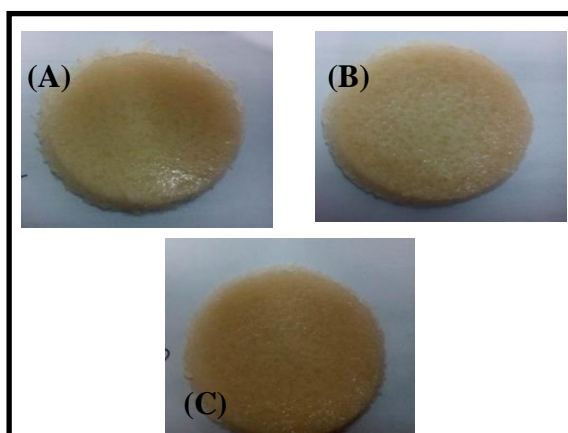
HASIL DAN PEMBAHASAN

Formulasi Membran Hidrogel Berpori

Pembuatan membran hidrogel dilakukan dengan mengkombinasikan chitosan dan gelatin yang akan mengalami *cross-link* membentuk suatu massa gel. Chitosan dilarutkan dengan pelarut yang sesuai yaitu buffer asetat karena kelarutan chitosan pada pH asam kurang dari 6,5 dan tidak larut pada pH basa serta netral. Gelatin dilarutkan dalam aquadest dengan suhu 80°C, sedangkan pembentukan pori menggunakan metode *gas foaming* dengan menambahkan agen penghasil gas dalam campuran formula yaitu interaksi

antara asam sitrat-natrium bikarbonat dan air menghasilkan gas karbondioksida menjadi globul-globul dalam campuran semi padat chitosan-gelatin dan terjebak didalamnya sehingga membentuk pori-pori. Gas karbondioksida merupakan jenis gas inert dalam bidang farmasetika dan biomaterial (Purwita *et al*, 2013).

Penyimpanan campuran chitosan dan gelatin membutuhkan waktu yang cukup lama sehingga perlu dicegah agar tidak terjadi kontaminasi mikroba dan jamur dengan menambahkan kombinasi pengawet metil dan propil paraben. Kombinasi dikarenakan metil paraben mempunyai aktivitas antimikroba paling kecil, pada kombinasi dengan paraben rantai panjang menghasilkan efek sinergis sebagai antimikroba yang paling efektif terhadap jamur dan ragi (Anwar, 2002). Hasil membran dapat dilihat pada Gambar 1.



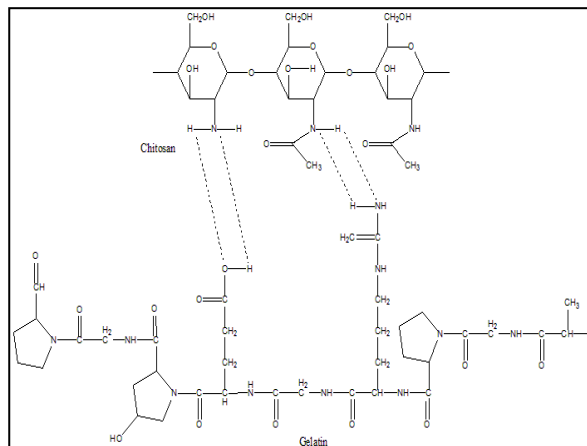
Gambar 1. Hasil Membran Hidrogel (A) Formula 1 Asam 50 mg : Basa 150 mg, (B) Formula 2 Asam 25 mg : Basa 75 mg dan (C) Formula 3 asam 12.5 mg : Basa 37.5 mg

Chitosan memiliki ketersediaan yang berlimpah secara alami, sifat biokompatibilitas yang baik, biodegradabilitas, toksisitas dan imunogenisitas rendah. Selain itu chitosan merupakan polimer alami yang memiliki gugus reaktif berupa gugus amina dan hidroksi yang mampu membentuk *crosslink* baik dengan rantai molekul chitosan lainnya maupun dengan polimer lain seperti gelatin dengan kandungan fungsional karboksilat (R-COOH) dan amina (R-NH₂) sehingga terbentuk suatu membran hidrogel.

Gelatin merupakan turunan kolagen yang dalam bentuk hidrogel memiliki kekuatan *cross-link* yang lebih tinggi dan karakteristik fisik-mekanik yang baik sehingga mampu menyerap air 5-10 kali bobotnya. Ilustrasi ikatan *crosslink* dapat dilihat pada Gambar 2.

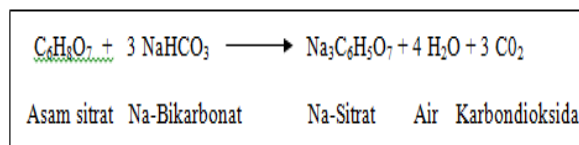
Ikatan silang yang terjadi berupa ikatan hidrogen yang ditunjukkan dengan garis putus-putus antara amina dan amida dari chitosan dengan amina dan hidroksi dari gelatin (Gambar 2). Ikatan hidrogen merupakan tarikan antara atom hidrogen yang parsial positif ditarik ke arah atom elektronegatif lainnya. Gambar 2 menunjukkan atom N pada gugus amina dari chitosan sebagai nukleofil memiliki struktur *lone pair* elektron yang dapat menarik atom elektronegatif gugus -OH. Gugus -OH lebih

polar dan mempunyai H yang lebih positif, sehingga H yang lebih positif ini lebih kuat tertarik oleh pusat negatif (Fessenden, 1982).



Gambar 2. Ilustrasi Ikatan *Crosslink* Chitosan-Gelatin

Pembentukan pori menggunakan metode *gas foaming* tidak memerlukan pelarut organik dan suhu tinggi sehingga tidak meninggalkan residu yang dapat merusak sel-sel dan jaringan didekatnya serta mengubah sifat perancah (Subia *et al*, 2010). Banyaknya jumlah agen pembentuk busa mempengaruhi jumlah dan bentuk struktur pori yang dihasilkan. Reaksinya cukup cepat dan berlangsung dalam waktu satu menit atau kurang (Gambar 3).



Gambar 3. Reaksi Asam Basa (Ansel, 1989)

Reaksi stokiometri asam basa pembentuk busa memerlukan na-bikarbonat

tiga kali lebih banyak dari asam sitrat agar pembentukan busa terjadi secara sempurna. Hal ini yang mendasari jumlah na-bikarbonat lebih banyak dibandingkan asam sitrat.

Uji Karakteristik Membran Hidrogel Berpori.

Kekuatan Tarik (*Tensile Strenght*)

Kekuatan tarik merupakan parameter kekuatan mekanik dari suatu membran hidrogel, sehingga sebagai perancah membran hidrogel mampu untuk menahan dan melindungi jaringan ketika terjadi gerakan disekitar jaringan. Parameter pada penelitian ini dengan mengukur nilai konstanta elastisitas (k) membran. Nilai k merupakan tingkat elastisitas bahan yang dikonversi menjadi konstanta elastisitas (N/m) dan nilai gaya putus bahan (F) dikonversi menjadi *Ultimate Tensile Strenght* (UTS). Kostanta elastisitas merupakan suatu ukuran kekerasan, kekakuan atau rigiditas dari zat untuk bertahan terhadap perubahan bentuk (Martin *et al*, 2008). Hasil perhitungan formulasi membran hidrogel dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Data Perhitungan Kostanta Elastisitas (K) Membran Hidrogel

F	$\text{Avr} \pm \text{SD}$
F1	$30.05 \times 10^3 \text{ N/m} \pm 2.2 \times 10^3 \text{ N/m}$
F2	$98.95 \times 10^3 \text{ N/m} \pm 9.9 \times 10^3 \text{ N/m}$
F3	$103.84 \times 10^3 \text{ N/m} \pm 20. \times 10^3 \text{ N/m}$

Data diuji menggunakan metode analisis variasi (ANOVA) satu jalur, didapat nilai probabilitas 0.001 ($P < 0.05$) yang meninterpretasikan bahwa terdapat perbedaan konstanta elastisitas (k) dari masing-masing formula. Selanjutnya dilakukan analisis lanjut menggunakan Tukey dalam Post Hoc Test.

Hasil konstanta elastisitas paling tinggi terdapat pada formula 3 yaitu $103,84 \times 10^3 \text{ N/m} \pm 20.3 \times 10^3 \text{ N/m}$ (Tabel 2), yang menunjukkan bahwa formula 3 memiliki konstanta elastisitas yang lebih tinggi. Semakin tinggi konstanta elastisitas akan menghasilkan membran yang lebih kaku dan lebih keras. Komposisi asam sitrat dan natrium bikarbonat pada formula 3 paling sedikit dibandingkan formula 1 dan 2 dimana semakin sedikit komposisi asam sitrat-natrium bikarbonat maka struktur hidrogel semakin padat (pori-pori mengecil), jika struktur hidrogel semakin padat maka semakin besar nilai konstanta elastisitas (k) suatu membran. Hal ini sesuai dengan pernyataan Gooch (2002) bahwa semakin banyak rantai yang berikatan silang dalam suatu polimer, hidrogel menjadi semakin keras/kuat.

Selain parameter elastisitas, juga dilakukan uji tarik terhadap membran hingga membran putus dan dicatat besarnya gaya yang diberikan serta waktu hingga membran

putus. Besarnya gaya yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Data Perhitungan UTS Membran Hidrogel

F	F (N)	A (m ²)	W	UTS (MPa)
F1	0.392	8.16 x 10 ⁻⁶	1.5	0.0480
F2	0.686	15.74 x 10 ⁻⁶	2	0.0436
F3	0.970	11.08 x 10 ⁻⁶	5	0.0875

Ket: F = Formula, F(N)= Gaya putus, A = luas penampang, W= waktu putus (menit)

Hasil yang telah dianalisis untuk nilai UTS membran hidrogel tertinggi yaitu 0,0875 pada formula 3. Besarnya UTS membran hidrogel menunjukkan kemampuan membran untuk menahan beban atau gaya (F) yang diberikan sampai membran mengalami perubahan bentuk (deformasi). Semakin struktur hidrogel semakin padat (pori-pori yang terbentuk sedikit) maka jarak antar molekul dalam hidrogel semakin rapat sehingga dapat dipastikan sifat mekanik semakin meningkat atau memiliki kekuatan tarik yang kuat (Meriatna, 2008 dan Istiqomah, 2012).

Persen Age Swelling

Analisis persen *age swelling* secara *in vitro* digunakan untuk mengetahui kemampuan membran dalam menyerap larutan di lingkungannya baik air maupun cairan tubuh sampai pada keadaan setimbangnya di dalam tubuh selama

perkembangan dan regenerasi sel. Persen *age swelling* diuji menggunakan NaCl fisiologis sebagai analog cairan tubuh. Hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Persen *Age Swelling*

Formulasi	Avr ± SD
F1	4.71% ± 3.5971%
F2	15% ± 4.1632%
F3	11.35% ± 4.0721

Data hasil uji karakteristik persen *age swelling* menggunakan Shapiro-Wilk didapat bahwa data tidak terdistribusi normal dengan nilai $P < 0.05$ maka analisis selanjutnya dilakukan menggunakan *kruskal wallis test*. Hasil *kruskal wallis test* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara ketiga formula pada persen *age swelling* ($P > 0,05$), kemudian dilanjutkan dengan analisis *mann-whitney* untuk membuktikan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara masing-masing formula.

Hasil persen *age swelling* tertinggi terdapat pada formula 2 dengan banyaknya asam sitrat : natrium bikarbonat (25 mg : 75 mg) sebesar 15% ± 4,1632%. Hal ini diduga karena pori yang terbentuk tinggi sehingga cairan dapat berpenetrasi ke dalam membran hidrogel. Densitas *cross-link*, banyaknya gugus hidrofilik dan struktur pori mempengaruhi kemampuan membran hidrogel berpori ketika *swelling*. Semakin tinggi

kandungan air yang dapat diserap oleh membran hidrogel maka semakin baik pula sifat biokompatibilitasnya (Ganji *et al*, 2010). Hidrogel memiliki biokompatibilitas yang baik karena memiliki permukaan hidrofilik terikat silang yang memiliki kapasitas mengembang (*swelling*) dengan menyerap air atau cairan biologis namun tidak larut karena adanya ikatan silang (Hassan dan Peppas, 2000).

Weight loss

Analisis *weight loss* digunakan untuk mengetahui besarnya kehilangan berat membran terhadap waktu yang diukur pada keadaan kering setelah membran mulai mengalami degradasi pada interval waktu 15 dan 30 menit. Proses *weight loss* membran harus bersamaan dengan regenerasi jaringan sehingga dapat berfungsi dengan baik. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 5 dan 6.

Tabel 5. *Weight Loss* Pada t=15 Menit

Formulasi	Avr ± SD
F1	0.6484 ± 0.0845
F2	0.5846 ± 0.0188
F3	0.5468 ± 0.0554

Tabel 6. *Weight Loss* Pada t=30 Menit

Formulasi	Avr ± SD
F1	0.8402 ± 0.0962
F2	0.7631 ± 0.0733
F3	0.6431 ± 0.0633

Analisis hasil uji *weight loss* menggunakan Shapiro-Wilk didapat bahwa data terdistribusi normal dan dianalisis

menggunakan uji *one way* ANOVA. Berdasarkan hasil uji statistik pada 15 dan 30 menit menunjukkan nilai $P > 0,05$ yang berarti hasil perhitungan *weight loss* ketiga formula tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Analisis lebih lanjut menggunakan Post Hoc Test Tukey.

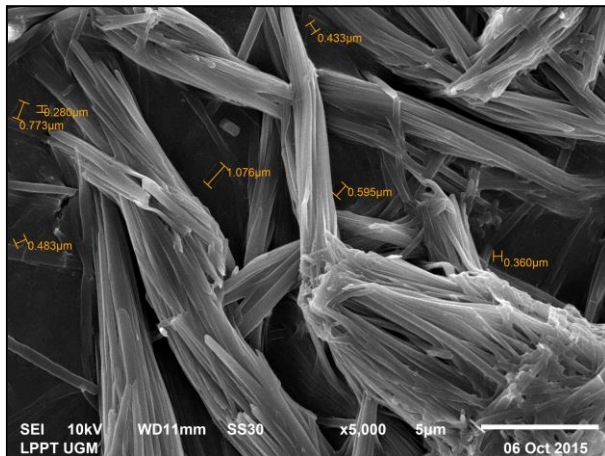
Hasil analisis nilai *weight loss* pada interval waktu 15 dan 30 menit menunjukkan pola yang sama $F3 < F2 < F1$ di mana formula 3 dengan perbandingan asam sitrat-natrium bikarbonat (12,5 mg : 37,5 mg) memiliki nilai paling kecil dibandingkan dengan formula lain. Hal ini memungkinkan pembentukan pori yang terjadi pada membran sedikit mempengaruhi ikatan *crosslink* yang terbentuk antara chitosan dan gelatin sehingga membentuk membran yang lebih kuat dan lebih lama bertahan dalam proses degradasi yang dapat mengakibatkan hilangnya fungsi membran sebagai perancah. Densitas yang lebih rapat akan mengalami degradasi lebih lambat, semakin besar nilai densitas akan memberikan mutu yang lebih baik (Moore *et al*, 2001).

SEM (Scanning Electron Microscope)

Analisis morfologi membran hidrogel dari kombinasi chitosan dan gelatin dilakukan menggunakan alat *Scanning Electron Microscope* (SEM). SEM menghasilkan gambar dari suatu sampel dengan kedalaman

fokus 500 kali lebih besar dibandingkan mikroskop cahaya. Mikroskop SEM memiliki perbesaran hingga 50.000 kali (Fujita *et al.*, 1981).

Ukuran pori yang didapat dari hasil SEM pada perbesaran 5000 kali menunjukkan ukuran pori yang berbeda-beda dengan ukuran pori terkecil 0,280 μm dan ukuran pori yang paling besar 1,076 μm . ukuran pori diperlukan untuk memfasilitasi penyediaan sel dan difusi nutrisi pada sel serta keseluruhan struktur. Sebagai sistem perancah, material harus memiliki ukuran pori 10 μm atau lebih rendah untuk menghindari terbentuknya jaringan parut pada saat proses regenerasi (Chiono *et al.*, 2009).



Gambar 4. Foto SEM membran hidrogel pada pembesaran 5000 kali

KESIMPULAN

1. Kombinasi chitosan dan gelatin dapat diformulasikan menjadi membran hidrogel berpori dengan metode *gas foaming*. Karakteristik fisik-mekanik membran

hidrogel berpori yang dihasilkan dari ketiga formula dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Hasil kostanta elastisitas (k) menunjukkan pola $F1 < F2 < F3$ dengan $F3$ memiliki nilai paling tinggi yakni sebesar $103,84 \times 10^3 \text{ N/m} \pm 20,3 \times 10^3 \text{ N/m}$. Sedangkan pada nilai UTS tidak terbentuk sebuah pola spesifik dimana $F3$ memiliki nilai paling tinggi yaitu 0,0875 MPa.
- Hasil persen *age swelling* tidak menunjukkan pola yang spesifik dimana formula 2 memiliki nilai paling tinggi namun tidak terdapat perbedaan signifikan dari ketiga formula.
- Hasil perhitungan *weight loss* pada $t = 15$ menit dan $t = 30$ menit membentuk pola yang sama yaitu $F3 < F2 < F1$ dimana nilai terendah dari masing-masing yaitu $0,5468 \pm 0,0554$ dan $0,6431 \pm 0,0633$.
- Hasil SEM menggambarkan ukuran pori dari yang paling kecil 0,280 μm dan ukuran pori yang paling besar 1,076 μm pada pembesaran 5000 kali.

2. Formula 3 merupakan formula terbaik berdasarkan hasil uji karakteristik fisik-mekanik dari ketiga formula.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansel H. 1989. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. Edisi ke-4. Universitas Indonesia Press : Jakarta.
- Anwar, E. 2002. Eksipien dalam Sediaan Farmasi Karakterisasi dan Aplikasi. Dian Rakyat : Jakarta.
- Chang, C.H., Liu, H.C., Lin, C.C., Chou, C.H., Lin, F.H. 2003. Gelatin–chondroitin–hyaluronan tri-copolymer scaffold for cartilage tissue engineering, *Biomaterials* 24, p4853–4858.
- Chen, G.; Ushida, T. & Tateishi, T. 2002. Development of biodegradable porous scaffolds for tissue engineering. *J. Mater Sci Eng C*. 17, 63–69.
- Chiang H, Jiang CC. 2009. Repair of articular cartilage defect: Review and perspectives. *J Formos Med Assoc.*;108(2):87-101.
- Chiono V, Tonda-Turo C, Ciardelli G. 2009. Chapter 9: Artificial scaffolds for peripheral nerve reconstruction, 87, p173-98.
- Cima, L. G.; Vacanti, J. P.; Vacanti, C.; Ingber, D.; Mooney, D. & Langer, R. 1991. Tissue engineering by cell transplantation using degradable polymer substrates. *J. Biomechanical Engg.* 113, 143–151.
- Fessenden dan Fessenden. 1982. Kimia Organik Edisi Ketiga Jilid 1. Penerbit Erlangga : Jakarta.
- Fujita, T *et al.* 1981. SEM Atlas of Cells and Tissues. Igaku-Shoin Medical Publishers, Inc. New York.
- Ganji F, Vasheghani-Farahani S dan Vasheghani-Farahani E. 2010. “Theoretical Description of Hydrogel Swelling: A Review”, *Iranian Polymer Journal* 19 (5), p375-398.
- Gooch, Jan W. 2010. *Emulsification and Polymerization of alkyd Resins*, Georgia Institute of Technology, Atlanta Georgia.
- Haleem AM, Chu CR. 2010. Advances in tissue engineering techniques for articular cartilage repair. *Optechorthopaedics.*; 20 (2):76-89. doi: 10.1053 /j.oto.2009. 10.004.
- Hassan, C.M. and Peppas, N.A. 2000. Structure and Morphology of Freeze/Thawed PVA Hydrogels, *Macromolecules*, No. 33: 2427.
- Istiqomah, N. 2012. *Pembuatan Hidrogel Kitosan-Glutaraldehyd untuk Aplikasi Penutup Luka secara In Vivo*, Skripsi, Teknobiomedik, FST UNAIR, Surabaya.
- Jayakumar R, Nwe N, Tokura S, Tamura H. 2007. Sulfated chitin and chitosan as novel biomaterials. *Int J Biol Macromol*;40:175–81.
- Jeong, B., Bae, Y. H., dan Kim, S. W. 1999. Thermoreversible gelation of PEG-PLGA-PEG triblock copolymer aqueous solutions, *Macromolecules*, vol. 32, no. 21, pp. 7064–7069.
- Kim, B. S.; Baez, C. E & Atala A. 2000. Biomaterials for tissue engineering, *World J. Urol.* 1, (18), 2–9.
- Kweona, H. Y.; Yoo, M. K.; Park, I. K.; Kim, T. H.; Lee, H. C.; Lee, H.-S.; Oh, J.-S.; Akaike, T.; Cho, C. S. 2003. A novel degradable polycaprolactone networks for tissue engineering. *Biomaterials*, 24, 801–808.
- Langer, R., dan Tirrel, D. A. 2004. Designing materials for biology and medicine, *Nature*, vol. 428, no. 6982, pp. 487-492.
- Ma, P. X. & Langer, R. 1999. Fabrication of biodegradable polymer foams for cell transplantation and tissue engineering. In *Tissue Engineering Methods and Protocols*, Morgan, J., and Yarmush, M. (eds.) Humana Press, NJ, 47

- Malafaya, P. B., Pedro, A. J., Peterbauer, A., Gabriel, C., Redl, H., dan Reis, R. L., 2005, Chitosan particles agglomerated scaffolds for cartilage and osteochondral tissue engineering approaches with adipose tissue derived stem cells, *Journal of Materials Science:Materials inMedicine*, vol. 16, no. 12, pp. 1077–1085.
- Meriatna, 2008, *penggunaan membran kitosan untuk menurunkan kadar logam krom (Cr) dan nikel (Ni) dalam limbah cair industry pelapisan logam*, Tesis, Progam Studi Teknik Kimia, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Mikos, A. G., Thorsen, A. J., Czerwonka, L. A. et al., 1994, Preparation and characterization of poly(l-lactic acid) foams, *Polymer*, vol. 35, no. 5, pp. 1068–1077.
- Mooney, D. J., Baldwin, D. F., Suh, N. P., Vacanti, J. P., dan Langer, R., 1996, Novel approach to fabricate porous sponges of poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) without the use of organic solvents, *Biomaterials*, vol. 17, no. 14, pp. 1417–1422.
- Moore, William R *et al.* 2001. *Synthetic Bone Graft Subtitutes*. ANZ J. Surg. 71, 354-361.
- Odelius, K., Plikk, P., dan Albertsson, A. C. 2008. The influence of composition of porous copolyester scaffolds on reactions induced by irradiation sterilization,” *Biomaterials*, vol. 29, no. 2, pp. 129–140.
- Purwita D, Dhirisma F, Dlukha R. 2013. Fabrikasi dan Karakterisasi Membran Film Hidrogel menggunakan kombinasi HPMC (Hidroksi Propil Metil Selulosa) dan Gelatin sebagai Perancah dalam Pengembangan Rekayasa Jaringan Lunak. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta : Yogyakarta.
- Rinaudo M. 2008. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. *Polym Int*;57:397–430.
- Solchaga, L. A.; Goldberg, V. M. & Caplan, A. I. 2001. Cartilage regeneration using principles of tissue engineering. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 391, S, 161-170.
- Subia B; Kundu, J; Kundu S.C. 2010. Biomaterial scaffold fabrication techniques for potential tissue engineering applications. *Biotechnology*. 142.