

AKTIFITAS BIODEGRADASI IN VITRO DAN IN VIVO SERAT KITOSAN YANG TELAH DIBERI PERLAKUAN DEHIDRASI DAN PLASTISISASI

IN VITRO AND IN VIVO BIODEGRADATION ACTIVITIES OF CHITOSAN FIBER AFTER RECEIVING DEHYDRATION AND PLASTICIZEN TREATMENTS

Wiwin Winiati, Wulan Septiani

Balai Besar Tekstil,
Jl. Jenderal Ahmad Yani 390. Bandung
E-mail: winiati@bdg.centrin.net.id

Tanggal diterima : 2 Mei 2013, direvisi : 22 Mei 2013, disetujui terbit : 31 Mei 2013

ABSTRAK

Pada penelitian ini dipelajari aktifitas biodegradasi in vitro dengan menggunakan enzim lisozim untuk serat kitosan yang telah diberi perlakuan proses dehidrasi dan plastisisasi biodegradasi in vivo terhadap kucing. Dengan tujuan untuk mengetahui parameter yang dapat menurunkan kecepatan biodegradasi yang ditunjukkan oleh penurunan besarnya kehilangan kekuatan tarik, pada biodegradasi in vitro dilakukan pengukuran diameter dan densitas, kekuatan tarik dan morfologi. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa biodegradasi serat kitosan dengan enzim lisozim dalam media larutan PBS (*phosphat buffer saline*) pada suhu 37 °C selama 3 hari, menyebabkan terjadinya penurunan kekuatan tarik, dan besarnya penurunan kekuatan tarik dipengaruhi oleh diameter serat, densitas serat, proses dehidrasi dan plastisisasi yang dilakukan, derajat deasetilasi kitosan serta jumlah enzim yang diberikan. Peningkatan densitas, melakukan proses dehidrasi dilanjutkan plastisisasi (DP) dan penggunaan kitosan dengan derajat deasetilasi (DD) yang lebih rendah berhasil mengurangi kehilangan kekuatan tarik serat karena biodegradasi. Biodegradasi menyebabkan terjadinya hidrolisa ikatan kimia dalam rantai polimer pada serat kitosan yang mengakibatkan terjadinya pengikisan/keropos pada serat. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa biodegradasi yang terjadi adalah menurut mekanisme *bulk degradation*. Uji biodegradasi in vivo menunjukkan serat kitosan biodegradable dan biokompatibel dengan jaringan kulit kucing, dan pada biodegradasi in vivo secara visual terlihat serat kitosan lebih cepat melebur dari pada saat uji in vitro.

Kata kunci : serat kitosan, dehidrasi, plastisisasi, biodegradasi, in vitro, in vivo,

ABSTRACT

In vitro biodegradation using lysozyme enzyme of chitosan fiber after receiving dehydration and plasticizer processes and in vivo biodegradation toward cat are studied in this research. In the in vitro biodegradation, diameter, density, tensile strength and morphology of the fiber were measured and identified to know the parameter that can reduce biodegradation rate and the mechanism of degradation. The result shows that in vitro degradation of chitosan fiber using lysozyme enzyme in PBS (phosphat buffer saline) media at 37 °C for 3 days caused a decrease in tensile strength, and the amount of tensile strength decrease is affected by diameter and density of fiber, dehydration and plasticizer processes, deacetylation degree (DD) of chitosan and the amount of enzyme used. Increasing in density, applying dehydration and plasticizer, and lower DD of chitosan used were contributed to decrease biodegradation rate. During the degradation process, hydrolytic scission of chemical bonds in the polymer chain of chitosan fiber leading to an eroding process on fiber was happened. This phenomenon indicated that a degradation of chitosan fiber using lysozyme was occurred according to a bulk degradation mechanism. Whereas, in vivo degradation experiment shows that chitosan fiber is biodegradable and biocompatible with outer cat skin, and visual observation on fused fiber indicates that chitosan fiber degradation by in vivo degradation is faster than by in vitro degradation.

Keywords: chitosan fiber, dehydration, plasticizer, biodegradation, in vitro, in vivo

PENDAHULUAN

Kitosan adalah biopolimer alam yang berupa polisakarida linier dari β -1,4-D-glukosamina. Sebagai biopolimer alam, kitosan mempunyai sifat biodegradabel. Dengan adanya kandungan gugus amina primer yang bersifat kationik, pada pH < 6,5 kitosan yang berada dalam larutan akan bermuatan positif sehingga kitosan merupakan polimer polikationik.^{1,2,3} Semua jaringan tubuh memiliki muatan negatif, sehingga kitosan yang membawa muatan positif dapat tertarik ke jaringan tubuh, kulit, tulang dan rambut. Sedangkan permukaan luar tubuh mikroba bermuatan positif. Hal ini menyebabkan kitosan mempunyai sifat menghambat aktifitas mikroba (*anti bacterial activity*). Kemampuan kitosan untuk terikat ke sel hidup tersebut (biokompatibel) disertai dengan sifat yang dapat menghambat aktifitas mikroba serta biodegradabel, menjadi suatu hal penting dalam penggunaan kitosan di bidang kesehatan. Kitosan dinyatakan sebagai material yang mempunyai potensi pengembangan ke depan karena sifat-sifatnya tersebut disertai dengan kemampuannya untuk dilakukan modifikasi struktur guna mendapatkan sifat dan fungsi yang diperlukan, yaitu dengan memanfaatkan reaktivitas kandungan gugus amino primer serta gugus OH primer dan gugus OH sekundernya.^{1,4,5,6}

Kitosan telah berhasil dibuat menjadi serat, dengan alat wet-spinning diperoleh serat kitosan dengan ukuran mikro hingga makro, sedangkan dengan alat elektrospinning diperoleh serat dengan ukuran nano.^{7,8} Serat kitosan yang berupa benang monofilamen diperuntukkan sebagai benang operasi.^{9,10} Karena sifat kitosan yang biodegradabel dan biokompatibel, benang kitosan dikategorikan sebagai benang operasi terserap, yaitu benang operasi yang akan menyatu dengan jaringan tubuh sehingga tidak perlu diambil kembali. Benang operasi terserap dari kitosan ternyata tahan terhadap cairan empedu, urine dan pankreas, yang merupakan masalah bagi benang operasi terserap lainnya, dan dinyatakan bahwa pembalut luka yang terbuat dari serat kitosan dapat mempercepat penyembuhan luka hingga 75%.⁹ Manfaat utama dari material yang biodegradabel ini adalah hilangnya material dalam jaringan tubuh sebagai hasil dari biodegradasi setelah menyatu dengan jaringan tubuh. Berbagai jenis material yang biodegradabel ternyata mempunyai kecepatan biodegradasi yang berlainan, oleh karena itu diperlukan material dengan kecepatan biodegradasi yang sesuai dengan kecepatan regenerasi jaringan tubuh. Investigasi mengenai kecepatan biodegradasi biomaterial diperlukan untuk aplikasi material tersebut khususnya di bidang medis.⁹

Biodegradasi dalam konteks aplikasi biomedis diartikan sebagai kerusakan bertahap pada

material yang dimediasi oleh aktivitas biologis yang spesifik.¹¹ Polimer yang biodegradable adalah material yang mempunyai kemampuan beradaptasi pada periode waktu tertentu dan selanjutnya terdegradasi dengan mekanisme yang terkontrol, menjadi produk yang mudah dieliminasi dalam sistem metabolisme tubuh. Dalam hal ini biodegradabilitas tidak hanya mengeliminasi bahaya komplikasi yang disebabkan oleh adanya bahan asing dalam waktu yang lama dan kebutuhan operasi kedua untuk mengambil kembali bahan asing tersebut, tetapi juga mempercepat penyembuhan karena jaringan berinteraksi dan tumbuh ke dalam bentuk terbiodegradasi.¹¹

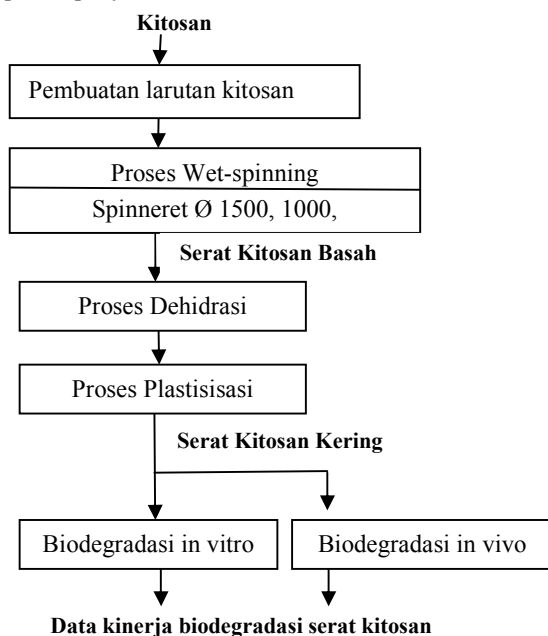
Biodegradasi biomaterial dapat terjadi pada tahap persiapan yang berbeda, termasuk selama penyimpanannya. Polimer biomaterial bila kontak dengan cairan dan jaringan tubuh dapat terdegradasi oleh oksidasi kimia dan oksidasi enzimatik, oleh hidrolisa non-enzimatik dan hidrolisa katalis enzimatik.¹¹ Dalam hal ini, enzim adalah katalis biologis yang dapat meningkatkan kecepatan reaksi organisme hidup tanpa dirinya mengalami perubahan yang permanen. Reaksi hidrolisa enzimatik polimer biomaterial merupakan proses yang heterogen yang dipengaruhi oleh cara interaksi antara enzim dengan rantai polimer dan biasanya melibatkan empat tahap yaitu:¹¹

- difusi enzim dari media larutan ke permukaan bahan padat
 - adsorpsi enzim ke substrat menghasilkan bentuk kompleks enzim-substrat
 - katalisis reaksi hidrolisa
 - difusi produk biodegradasi yang dapat larut dari substrat padat ke dalam larutan
- Kecepatan reaksi biodegradasi dikontrol oleh tahapan yang paling lambat. Adsorpsi dan kecepatan reaksi hidrolisa dipengaruhi oleh sifat kimia-fisik dari substrat yaitu berat molekul, komposisi kimia, kristalinitas, luas permukaan, dan juga oleh karakteristik spesifik enzim yaitu aktivitas, stabilitas, konsentrasi, komposisi asam amino dan konformasi 3-D.¹¹ Penting pula untuk diperhatikan kondisi media yaitu pH dan temperatur yang dapat mempengaruhi sifat substrat dan enzim. Adanya bahan stabilisator, aktivator dan inhibitor dalam media sebagai hasil biodegradasi material atau yang dilepas dari aditif proses dapat mempengaruhi reaksi katalitik enzimatik dengan mempengaruhi adsorpsi dan aktivitas enzim. Biodegradasi polimer dapat terjadi menurut mekanisme *bulk degradation* atau *surface erosion*.^{11,12} Pada mekanisme *bulk degradation* terjadi hidrolisa ikatan kimia dalam rantai polimer pada sentrum material yang biasanya menghasilkan sel yang kosong tetapi dimensi material tidak berubah hingga waktu tertentu. Pada mekanisme *surface erosion* terjadi kehilangan material hanya pada permukaan saja yang menghasilkan profil kehilangan masa yang dapat diprediksi. Material

menjadi lebih kecil tetapi bentuk geometrisnya tidak berubah. Mekanisma ini dapat digunakan untuk menghantarkan/melepas molekul dengan kecepatan yang konstan dengan tetap menjaga integritas mekanikal dan struktural material.

Dalam pengujian biodegradasi biomaterial, ada tiga jenis pengujian yang dapat dilakukan yaitu pengujian *in vitro*, *in vivo* dan pengujian klinis.¹¹ Kata *in vitro* dan *in vivo* berasal dari bahasa Latin yang masing-masing berarti 'dalam gelas' dan 'dalam kehidupan'. Pengujian biodegradasi *in vitro* merupakan pengujian awal untuk memprediksi kemampuan biomaterial pada situasi klinis. Monitoring untuk mengetahui pengaruh biodegradasi terhadap biomaterial dapat dilakukan dengan cara analisis permukaan dan analisis fisik yang meliputi berat, berat molekul, kristalinitas, morfologi, kimia permukaan, sifat mekanik dan produk biodegradasi.¹¹

Lisozim adalah enzim yang terkandung dalam cairan serum manusia sebanyak 4-13 mg/L dengan waktu paruh 16 jam. Lisozim juga terdapat pada cairan yang keluar dari mata (air mata) dan hidung, serta terdapat juga pada putih telur. Lisozim dapat menghidrolisa polisakarida, dan berperan pula pada biodegradasi kitin-kitosan.¹¹ Lisozim merupakan enzim yang menghidrolisa glikosidik pada kitin. Pada saat terdegradasi oleh lisozim, kitin akan terpecah menjadi oligosakarida yang kemudian akan terdegradasi lagi dalam tubuh menjadi N-asetilglukosamin. Kitosan akan terdegradasi lagi oleh enzim hidrolase yang ada dalam tubuh. Hasil biodegradasi kitosan adalah senyawa N-glukosamin. Kedua senyawa hasil biodegradasi kitin dan kitosan ini berguna bagi nutrisi sel sehingga dapat membantu proses penyembuhan luka.¹¹



Gambar 1. Diagram Alir Penelitian

Dalam penelitian ini dipelajari biodegradasi serat kitosan *in vitro* dengan menggunakan enzim lisozim, serta pengaruh proses dehidrasi dan plastisisasi terhadap biodegradasi, dengan melakukan pengukuran beberapa parameter dari teknik monitoring biodegradasi, serta biodegradasi serat kitosan *in vivo* dengan melakukan uji coba pemanfaatan serat kitosan sebagai benang operasi untuk menjahit luka pada kucing

METODA

Penelitian dilakukan dengan beberapa tahap, yaitu dimulai dari pembuatan serat kitosan dengan alat *wet-spinning*, proses dehidrasi dan plastisisasi terhadap serat kitosan dilanjutkan dengan uji biodegradasi serat kitosan *in vitro*. Secara singkat diagram alir penelitian disajikan pada Gambar 1.

Bahan

- Kitosan dibuat dari kulit udang dengan melakukan 3 tahap proses secara batch yaitu deproteinasi, demineralisasi dan deasetilasi. Deproteinasi dilakukan dengan merendam dalam larutan Natrium hidroksida 1% (w/w) pada temperatur 85 °C selama 1 jam, demineralisasi dilakukan dengan merendam dalam larutan Asam klorida 3% (v/v) pada 50 °C selama 1 jam dan deasetilasi dilakukan dengan merendam dalam larutan Natrium hidroksida 50% (w/w) pada 120 °C selama 2 jam. Pada setiap tahap, setelah proses selesai dilanjutkan dengan pencucian menggunakan air kran dan pengeringan dalam oven pada 105 °C
- Bahan kimia yaitu natrium hidroksida, asam klorida, asam asetat, methanol dan gliserol diperoleh dari Merck dengan grade p.a

Cara

- Pembuatan larutan kitosan dilakukan dengan melarutkan kitosan bubuk dalam larutan asam asetat-metanol 2 % (v/v)
- Pembuatan serat kitosan dilakukan dengan menggunakan alat *wet-spinning* dengan koagulan larutan NaOH 14% pada temperature 40 °C, dilakukan variasi ukuran diameter spinneret yang digunakan yaitu 1500 µm, 1000 µm.
- *Post treatment* dilakukan terhadap serat kitosan yaitu proses dehidrasi (D) dan plastisisasi (P). Proses dehidrasi dilakukan dengan merendam serat dalam methanol 30 % selama 4 jam. Proses plastisisasi pada serat kitosan dilakukan dengan memutar rol serat dalam bak berisi larutan gliserol 5 % selama 5 menit, hanya ¼ bagian rol yang tercelup ke dalam larutan sehingga terjadi kontak antara serat dengan larutan gliserol secara bergantian.
- Pengukuran dan pengujian:
 - Analisa gugus fungsi dan perhitungan derajat deasetilasi kitosan dilakukan dengan cara

FTIR menggunakan FTIR merek Shimadzu Prestige

- Pengukuran kekuatan tarik serat kitosan dilakukan dengan alat Textechno Statimat ME Test
- Analisa morfologi serat kitosan dilakukan dengan alat Scanning Electron Microscope (SEM), merek JEOL JSM-6510/LV/A/LA
- Pengukuran diameter serat kitosan dilakukan dengan alat mikroskop dilengkapi micrometer
- Uji biodegradasi in vitro dilakukan untuk mengetahui laju biodegradasi benang kitosan terhadap enzim lisozim. Pengujian dilakukan pada konsentrasi larutan enzim lisozim 2 mg/mL dan 5 mg/mL dengan mencampur lisozim dalam PBS (*phosphat buffer saline*). Digunakan larutan enzim dengan perbandingan 2 mL larutan enzim untuk setiap 10 mg contoh uji yang dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37 °C, setiap hari larutan enzim diganti dengan larutan enzim segar, dan pengujian dilakukan selama 3 hari.⁹
- Uji in vivo dilakukan dengan menggunakan serat kitosan sebagai benang operasi untuk menjahit luka pada kucing. Uji-coba penjahitan dilakukan oleh Dokter Hewan di Klinik Hewan dengan mengikuti tahapan pelaksanaan sesuai dengan prosedur standar yang harus dilakukan oleh seorang dokter

hewan dalam melakukan operasi, dalam hal ini luka dibuat dengan membuat sayatan pada kulit bagian luar kucing tersebut. Dilakukan pengamatan secara visual kinerja serat kitosan saat digunakan dan hasil penjahitan nya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan serat kitosan

Dengan menggunakan spinneret diameter 1000 μm dan 1500 μm , dari kitosan dengan derajat deasetilasi 52 – 64% dengan post treatment dehidrasi dan dehidrasi + plastisisasi, telah dihasilkan 5 macam serat kitosan. Serat kitosan yang dihasilkan beserta karakteristiknya disajikan pada Tabel 1.

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa dengan menggunakan diameter spinneret yang lebih besar akan dihasilkan serat kitosan dengan diameter dan gaya maksimum yang lebih besar (serat kitosan 1 dan 2), akan tetapi bila dilihat kekuatan tariknya lebih kecil karena kekuatan tarik adalah gaya dibagi luas penampangnya. Perbedaan *post treatment* pada serat kitosan nomor 3 dan 4 tidak memberikan perbedaan diameter maupun densitas yang signifikan akan tetapi proses plastisisasi yang dilakukan setelah proses dehidrasi mengakibatkan terjadinya penurunan gaya maksimum dan kekuatan tarik yang cukup tinggi, hal ini sesuai dengan hasil yang diperoleh pada penelitian terdahulu.⁷

Tabel 1. Data Serat Kitosan

Diameter Spinneret, μm	Derajat Deasetilasi kitosan, %	Post treatment, D/P*)	Kode Serat Kitosan yang dihasilkan	Karakteristik Serat Kitosan			
				Diameter, μm	Gaya maksimum, N	Kekuatan tarik, MPa	Densitas g/cm^3
1000	64	DP	1	330	2,44	28,54	t.d
1500	64	DP	2	456	2,76	16,90	0,577
1500	52	D	3	364	2,88	27,68	1,153
1500	52	DP	4	365	1,95	18,64	1,173
1500	61	DP	5	406	3,41	26,34	1,051

*) D= dehidrasi; P=Plastisisasi; t.d=tidak diukur

Tabel 2. Biodegradasi in vitro serat kitosan

No	Kode serat kitosan	Lisozim, mg/mL	DD Kitosan, %	Awal		Setelah biodegradasi			
				Berat, mg	Kekuatan tarik, MPa	Berat, mg	Kekuatan tarik, MPa	Selisih berat, %	Kehilangan Kekuatan tarik, %
1	1	2	64	33,3	28,54	30,4	12,40	(-) 8,7	56
2	2	2	64	75,4	16,90	73,7	10,72	(-) 2,25	36
3	2	5	64	152,6	16,90	179,8	7,29	(+) 17,82	57
4	5	5	61	278,8	26,34	256,4	16,68	(-) 8,0	37
5	3	5	52	229,2	27,68	267,8	15,76	(+) 16,84	43
6	4	5	52	197,8	18,64	219,3	13,86	(+) 10,86	26
7	2	5	64	152,6	16,90	179,8	10,72	(+) 17,82	36
8	4	5	52	197,8	18,64	219,3	13,86	(+) 10,86	26
9	2	2	64	75,4	16,90	73,7	10,72	(-) 2,25	36
10	2	5	64	152,6	16,90	179,8	7,29	(+) 17,82	57

Keterangan :

No. 1 dan 2 - Perbedaan diameter serat, 330 μm dan 456 μm

No. 3 dan 4 - Perbedaan densitas, 0,577 g/cm^3 dan 1,051 g/cm^3

No. 5 dan 6 - Perbedaan proses *post treatment*, dehidrasi (D) dan dehidrasi + plastisisasi (DP)

No. 7 dan 8 - Perbedaan derajat deasetilasi (DD), 64 % dan 52 %

No. 9 dan 10 - Perbedaan jumlah enzim Lisozim, 2 mg/mL dan 5 mg/mL

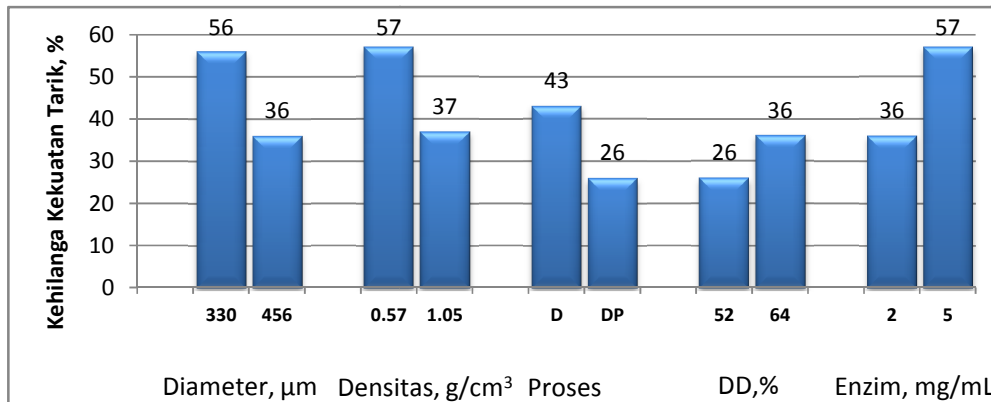
Pengujian biodegradasi in vitro

Uji biodegradasi in vitro dilakukan terhadap 5 buah sampel serat kitosan dengan konsentrasi enzim 2-5mg/mL selama 3 hari. Hasil uji biodegradasi disajikan pada Tabel 2. Data pada Tabel 2 selanjutnya ditampilkan dalam Gambar 2 dan 3, masing-masing menunjukkan perubahan kekuatan tarik dan selisih berat yang disusun berdasarkan perbedaan diameter serat, densitas serat, proses *post treatment* yang dilakukan, derajat deasetilasi kitosan serta jumlah enzim yang diberikan.

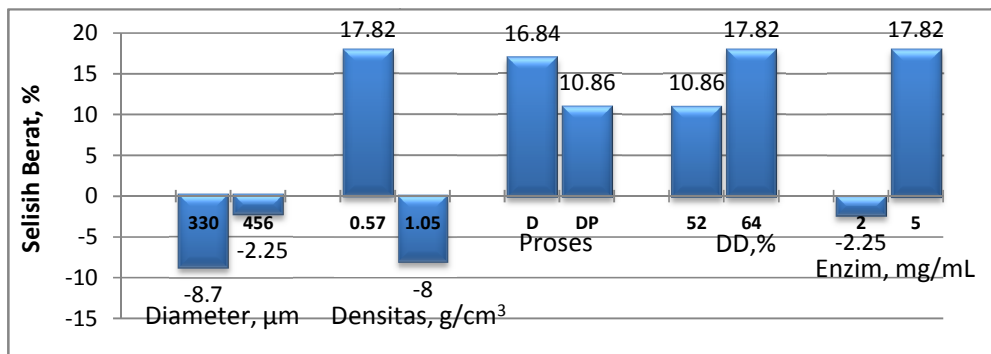
Tabel 2 menunjukkan bahwa biodegradasi serat kitosan dengan enzim lisozim menyebabkan terjadinya penurunan kekuatan tarik, dan besarnya penurunan kekuatan tarik dipengaruhi oleh diameter serat, densitas serat, proses *post treatment* yang dilakukan, derajat deasetilasi kitosan serta jumlah enzim yang diberikan. Sedangkan pada pengamatan berat serat, setelah biodegradasi terjadi selisih berat yang positif (berat naik) dan selisih berat yang negatif (penurunan berat). Hal ini dapat terjadi karena pada biodegradasi selama 3 hari tersebut telah terjadi difusi enzim dari media larutan ke permukaan substrat serat dilanjutkan dengan adsorpsi enzim ke substrat menghasilkan bentuk kompleks enzim-substrat dan katalisasi reaksi hidrolisa, akan tetapi produk biodegradasi yang terjadi tidak dapat larut

dari substrat serat ke dalam larutan yang dapat disebabkan produk biodegradasi tidak cukup kecil (masih terlalu besar) untuk menjadi terlarut.^{10,11} Serta dari proses plastisasi setelah dehidrasi, adanya kandungan gliserol dalam serat menyebabkan serat bersifat hidroskopis yang dapat menyebabkan terjadinya kenaikan berat.^{13,14,15}

Dari Gambar 2 terlihat bahwa kenaikan diameter dan densitas serat serta proses plastisasi telah memberikan kehilangan kekuatan tarik yang lebih rendah, sedangkan peningkatan derajat deasetilasi (DD) dan peningkatan jumlah enzim yang diberikan akan memberikan peningkatan kehilangan kekuatan tarik. Menurut standar dari USP (United State Pharmacope) untuk benang operasi terserap, dipersyaratkan kehilangan kekuatan tarik selama 3 hari adalah $\leq 50\%$.¹⁶ Maka peningkatan densitas (termasuk diameter), melakukan proses dehidrasi dilanjutkan plastisasi (DP) dan penggunaan kitosan dengan DD yang lebih rendah berhasil mengurangi kehilangan kekuatan tarik serat karena biodegradasi. Hal ini disebabkan karena perlakuan dehidrasi dilanjutkan plastisasi (DP) juga memberikan peningkatan densitas, dan kitosan dengan DD yang lebih rendah mempunyai kelarutan yang lebih rendah pula.^{7,13,14}



Gambar 2. Kehilangan kekuatan tarik serat kitosan setelah biodegradasi



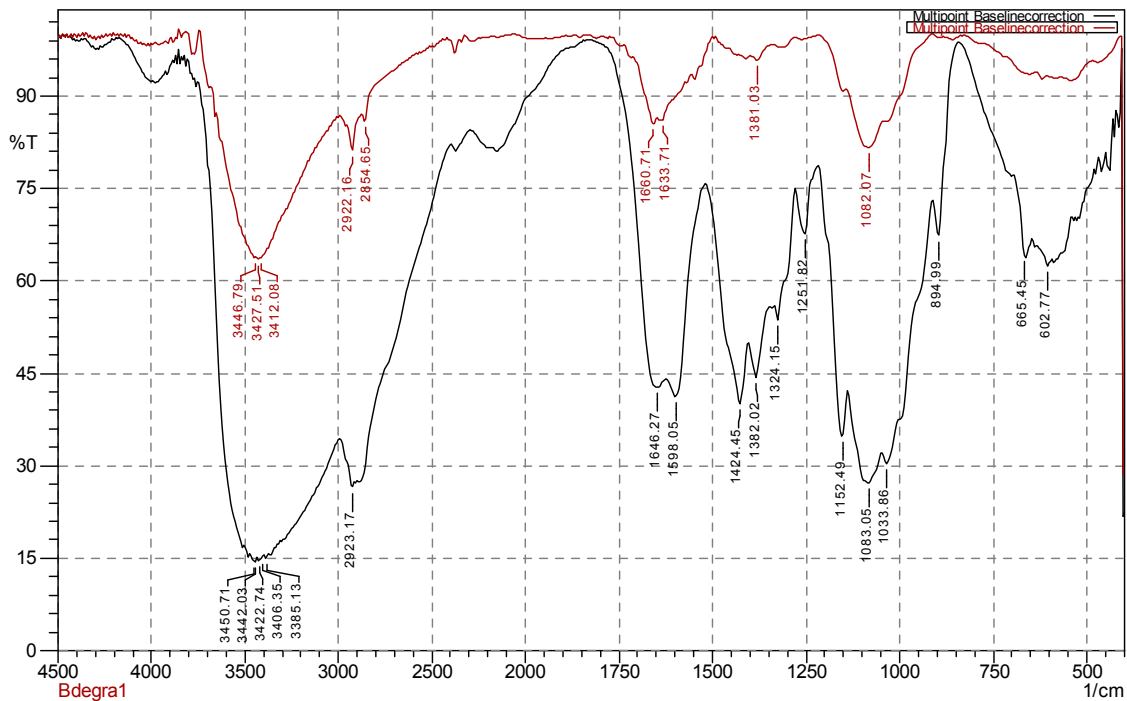
Gambar 3. Selisih berat serat kitosan setelah biodegradasi

Dari Gambar 3 terlihat bahwa setelah biodegradasi terjadi selisih berat yang positif (berat naik) dan selisih berat yang negatif (penurunan berat). Peningkatan diameter memberikan penurunan berat yang lebih kecil, sedangkan pada perbedaan densitas, serat dengan densitas $0,57 \text{ g/cm}^3$ setelah biodegradasi berat naik sedangkan pada densitas $1,05 \text{ g/cm}^3$ terjadi penurunan berat. Pada variabel proses dehidrasi (D) dan dehidrasi dilanjutkan plastisisasi (DP), perbedaan derajat deasetilasi kitosan (DD) serta jumlah enzim yang diberikan, setelah biodegradasi terjadi penambahan berat yang dapat disebabkan masih menempelnya produk biodegradasi pada serat karena produk biodegradasi tidak cukup kecil (masih terlalu besar) untuk menjadi terlarut.¹¹ Hal ini menunjukkan bahwa melakukan pengukuran berat sebelum dan setelah biodegradasi kurang tepat untuk monitoring biodegradasi.

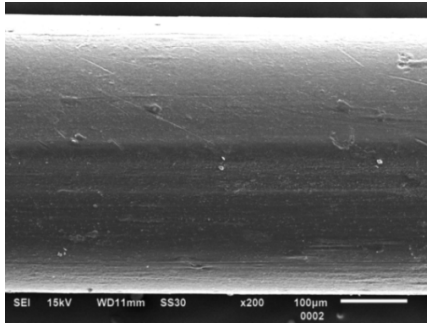
Pada Gambar 4 ditunjukkan kurva FTIR serat kitosan awal sebelum biodegradasi (kurva hitam/bawah) dan serat kitosan setelah biodegradasi (kurva merah/atas). Dari kedua kurva tersebut terlihat bahwa beberapa puncak pada serat kitosan awal masih terlihat pada serat kitosan setelah biodegradasi tetapi intensitas/tingginya menurun yaitu puncak pada bilangan gelombang $3400\text{-}3500 \text{ cm}^{-1}$ untuk regangan gugus -OH dan -NH_2 , pada bilangan gelombang 2924 cm^{-1} dan 2854 cm^{-1} untuk CH_2 , pada 1649 cm^{-1} dan 1598 cm^{-1} untuk amida I

dan amida II, pada 1153 cm^{-1} untuk C-O-C, pada 859 cm^{-1} untuk amida primer, serta pada daerah 665 cm^{-1} untuk *mono nuclear aromatic*. Dari pengamatan kurva FTIR tersebut terlihat telah terjadinya hidrolisa ikatan kimia dalam rantai polimer pada serat kitosan, dan terjadi difusi produk biodegradasi yang dapat larut dari serat ke dalam larutan. Lisozim dapat menghidrolisa polisakarida, dalam hal ini lisozim akan menghidrolisa kitin-kitosan. Lisozim merupakan enzim yang menghidrolisa glikosidik pada kitin-kitosan dan pada saat terbiodegradasi oleh lisozim, kitin akan terpecah menjadi oligosakarida yang kemudian akan terdegradasi lagi dalam tubuh menjadi N-asetil-glukosamin.¹⁰ Senyawa hasil biodegradasi kitin dan kitosan yaitu N-asetil-glukosamin dan N-glukosamin merupakan senyawa yang dapat larut dalam air akan terdifusi ke dalam larutan, akan tetapi oligosakarida kemungkinan lebih sulit terlarut, sehingga pada tahap awal biodegradasi tidak terjadi penurunan berat, maka pengamatan penurunan berat kurang tepat untuk memonitor biodegradasi karena produk biodegradasi masih banyak yang menempel pada seratnya.

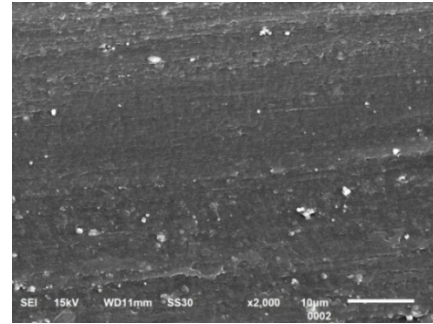
Untuk mengetahui pola biodegradasi yang terjadi pada serat kitosan, morfologi serat kitosan sebelum dan setelah biodegradasi dilihat dengan alat Scanning Electron Microscope (SEM) yang hasilnya disajikan pada Gambar 5 berikut.



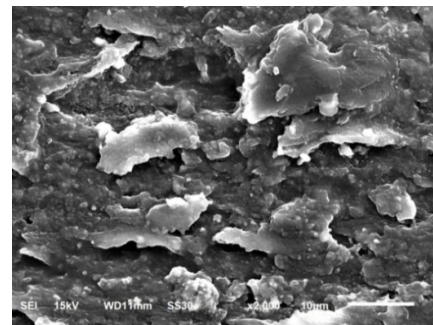
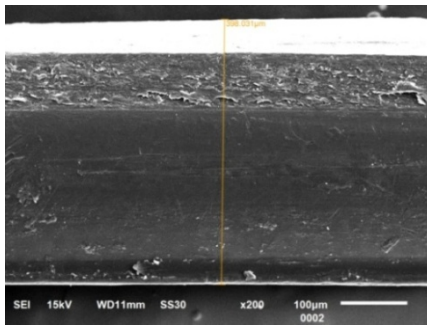
Gambar 4. Kurva FTIR serat kitosan sebelum dan setelah biodegradasi



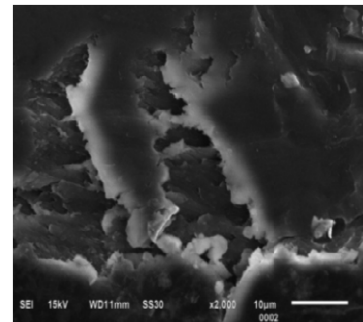
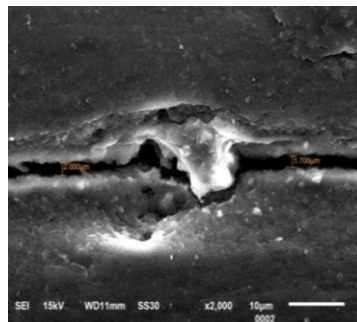
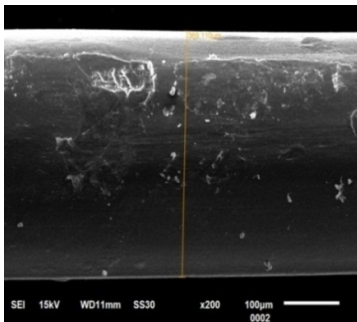
Serat Kitosan, perbesaran 200x



Serat Kitosan, perbesaran 2000x



Biodegradasi dengan Lisozim 2mg/mL, perbesaran 200x dan 2000x



Biodegradasi dengan Lisozim 5mg/mL, perbesaran 200x , 2000x dan 2000x

Gambar 5. Morfologi serat kitosan sebelum dan setelah biodegradasi

Hasil SEM untuk serat kitosan dengan perbesaran 200x dan 2000x menunjukkan serat kitosan mempunyai permukaan yang cukup rata. Hasil SEM untuk serat kitosan setelah biodegradasi selama 3 hari oleh lisozim dengan konsentrasi 2 mg/mL perbesaran 200x dan 2000x menunjukkan terjadinya pengikisan pada permukaan serat, sedangkan hasil SEM untuk serat kitosan setelah biodegradasi selama 3 hari oleh lisozim dengan konsentrasi 5 mg/mL perbesaran 200x dan 2000x menunjukkan terjadinya pengikisan yang lebih ke dalam sehingga terlihat serat seperti keropos, akan tetapi diameter serat baik dilihat secara visual maupun dengan SEM terlihat tidak berubah (hampir

terap). Terjadinya pengikisan (keropos) pada serat kitosan karena degradasi oleh enzim akan mengakibatkan benang menjadi lebih cepat kehilangan kekuatannya.

Dari pengamatan analisa gugus fungsi dalam kurva FTIR dan pengamatan morfologi serat dengan SEM terlihat bahwa biodegradasi serat kitosan dengan enzim lisozim dalam media larutan PBS telah menyebabkan terjadinya hidrolisa ikatan kimia dalam rantai polimer pada serat kitosan yang mengakibatkan terjadinya pengikisan/keropos pada serat. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa biodegradasi yang terjadi adalah menurut mekanisme *bulk degradation*.

Pengujian biodegradasi in vitro

Serat kitosan yang dalam hal ini sama dengan benang kitosan monofilament dimasukkan ke jarum operasi *Traumatic needle*. Pada seekor kucing dibuat luka sayatan pada kulit bagian luar. Luka dijahit dan dibuat simpul pada setiap jahitan, diperoleh 3simpul jahitan. Dilakukan pengamatan secara visual biodegradasi dan biokompatibiliti benang terhadap jaringan tubuh/kulit kucing. Hasil yang diperoleh adalah sampai hari ke 3 luka sudah mulai menyatu kembali rata tanpa adanya selulit ataupun iritasi dan benang kitosan monofilamen masih

terlihat walaupun samar-samar. Bila dibandingkan secara visual, kondisi serat kitosan setelah uji in vivo selama 3 hari yang terlihat samar-samar, sedangkan kondisi serat kitosan setelah uji in vitro dengan enzim lisozim selama 3 hari yang ditunjukkan pada Gambar 5 terlihat masih utuh hanya keropos. Hal ini dapat menunjukkan bahwa biodegradasi in vivo berlangsung lebih cepat dari pada biodegradasi in vitro, yang dapat disebabkan karena pada biodegradasi in vivo produk biodegradasi lebih mudah terdifusi melebur menyatu dengan jaringan hidup. Jalannya percobaan disajikan pada Gambar 6 berikut.



a. Benang kitosan pada jarum *Traumatic needle*



b. Persiapan penjahitan, membuat luka sayatan



c. Penjahitan luka dengan benang kitosan



d. Pembuatan simpul benang



e. Hasil penjahitan luka dengan benang kitosan



f. Jahitan luka setelah 3 hari

Gambar 6. Uji invivo benang kitosan pada kucing

KESIMPULAN

Biodegradasi serat kitosan dengan enzim lisozim dalam media larutan PBS (*phosphat buffer saline*) menyebabkan terjadinya penurunan kekuatan tarik, dan besarnya penurunan kekuatan tarik dipengaruhi oleh diameter serat dan densitas serat, proses dehidrasi dan plastisisasi yang dilakukan, derajat deasetilasi kitosan serta jumlah enzim yang diberikan. Peningkatan densitas, melakukan proses dehidrasi dilanjutkan plastisisasi (DP) dan penggunaan kitosan dengan derajat deasetilasi (DD) yang lebih rendah berhasil mengurangi kehilangan kekuatan tarik serat karena biodegradasi. Biodegradasi menyebabkan terjadinya hidrolisa ikatan kimia dalam rantai polimer pada serat kitosan yang mengakibatkan terjadinya pengikisan/keropos pada serat. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa biodegradasi yang terjadi adalah menurut mekanisma *bulk degradation*. Biodegradasi in vivo menunjukkan bahwa serat kitosan biodegradabel dan biokompatibel dengan jaringan kulit luar kucing, dan terindikasi biodegradasi in vivo berlangsung lebih cepat dari pada biodegradasi in vitro karena produk biodegradasi lebih mudah terdifusi melebur menyatu dengan jaringan hidup.

PUSTAKA

- ¹ Pillai C.K.S, Paul W., Sharma P.C.(2009), Chitin and Chitosan Polymers: Chemistry, Solubility and Fiber Formation, *Progress in Polymer Science*, 34, 641-678
- ² Dutta P.K., Dutta J., Tripathi V.S., (2004), Chitin and Chitosan: Chemistry, Properties and applications, *Journal of Scientific & Industrial Research*, Vol 63, 20-31
- ³ Petrulyte S. and Petrusis D., (2011), Modern Textiles and Biomaterials for Healthcare, *Handbook of Medical Textiles Chapter 1*, Woodhead Publishing Limited, USA, 3 - 37
- ⁴ Liu S., (2011), Bio-functional Textile, *Handbook of Medical Textiles Chapter 15*, Woodhead Publishing Limited, USA, 336 – 359
- ⁵ Struszczyk M.H., (2006), Global Requirements for Medical Application of Chitin and its Derivatives, *Polish Chitin Society, Monograph XI*, 113 – 121
- ⁶ Tan H., et al. (2013), Quaternized Chitosan as an Antimicrobial Agent: Antibacterial Activity, Mechanism of Action and Biomedical Application in Orthopedics, *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 1854 – 1869
- ⁷ Winiati W., Wahyudi T., Kurniawan I., Yulina R., (2012), Peningkatan Sifat Mekanik Serat Kitosan Melalui Proses Plastisisasi Dengan Gliserol Setelah Proses Dehidrasi Dengan Metanol, *Jurnal Ilmiah Arena Tekstil*, Vol. 27 No. 2, 79-86
- ⁸ Judawisastra H., Winiati W., Ramadhianti P.A., (2012), Pembuatan Serat Nano Kitosan Tanpa Beads Melalui Penambahan PVA dan HDA, *Jurnal Ilmiah Arena Tekstil*, Vol. 27 No. 2, 63-70
- ⁹ Yang Y.M., Hu W., Wang X.D., Gu X.S., (2007), The Controlling Biodegradation of Chitosan Fiber By N- acetylation in Vitro and in Vivo, *J. Mater Sci: Mater Med*, 18, 2117-2121
- ¹⁰ Winiati W. (2008), Pemanfaatan Benang Chitosan sebagai Benang Bedah pada Kucing, *Arena Tekstil*, Vol. 23, No. 1, 16 - 22
- ¹¹ Azevedo, H.S. and Reis, R.L., (2005). Understanding the Enzymatic Degradation of Biodegradable Polymers and Strategies to Control Their Degradation Rate, *Biodegradable Systems in Tissue Engineering and Regenerative Medicine* (177 – 201). CRC Press LLC
- ¹² Dijkhuizen-Radersma R., Morni L., Apeldoorn A., Zhang Z., and Grijpma D., (2008), Degradable Polymers for Tissue Engineering, *Tissue Engineering Chapter 7*, 193 - 221
- ¹³ Wei Y.C., (1992), The Crosslinking of Chitosan Fibers, *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, Vol. 30, 2187 – 2193.
- ¹⁴ Knaul J. (1998), Improvements in the Drying Process for Wet-Spun Chitosan Fiber, *Journal of Polymer Science*, Vol. 69, 1435 – 1444.
- ¹⁵ Liang S. et al. (2009), Microstructure and Molecular Interaction in Glycerol Plasticized Chitosan/Polyvinyl alcohol Blending Films, *Macromolecular Chemistry and Physics*, 210, 832 – 839
- ¹⁶ United State Pharmacopeial Convention. 2009 *United State Pharmacopeia* 32 – *National Formulation* 27. Maryland, USA.