

BAB 2

DASAR TEORI

2.1 KAJIAN PUSTAKA

Tahun 1977 terdapat penelitian terkait pelapisan *shunt* hidrosefalus menggunakan heparin dengan tujuan menghilangkan kebutuhan heparin sistemik, menghindari hipertensi selama *crossclamping*, dan perfusi sirkulasi distal yang adekuat tanpa pompa sela [6]. Penelitian ini menggunakan polyvinyl *shunt* yang dilapisi oleh Grafit Benzolkonium Heparin (GBH) yang telah lama dikenal sebagai anti koagulan yang dapat mencegah penggumpalan darah pada otak yang sangat dibutuhkan oleh penderita hidrosefalus yang rentan akan penggumpalan darah [6]. Namun penelitian ini belum dapat memenuhi kebutuhan *shunt* antibakteri yang dapat mencegah infeksi *shunt*.

Tahun 2000 terdapat penelitian terkait pelapisan *shunt* yang dicangkokkan dengan hidrogel polivinilpirolidon (SEpvp) lalu dilakukan *dip-coating* menggunakan antibiotik guna memenuhi kebutuhan antibakteri pada *shunt* [8]. Setelah dilakukan *coating*, dilakukan uji antibakteri menggunakan bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang diketahui banyak dijumpai pada kasus infeksi akan *shunt*. Hasil akhir ditemukan bahwa *shunt* yang dicangkokkan hidrogel polivinilpirolidon (SEpvp). Satu-satunya kombinasi yang menunjukkan aktivitas lebih besar daripada antimikroba tunggal adalah SEpvp yang direndam dalam kombinasi teicoplanin rifampisin, yang menunjukkan periode peningkatan aktivitas anti bakteri tinggi (84 jam) dibandingkan dengan rifampisin atau teicoplanin saja [8].

Tahun 2004 terdapat penelitian terkait *shunt* antibakteri dengan cara membandingkan karakteristik kolonisasi bakteri dari material *shunt* elastomer silikon biasa dengan yang dilapisi polivinilpirolidon dan dimetilpolisiloksan (silikon), penelitian dilakukan dengan uji in-vitro dengan objek direndam dan tidak direndam antibiotik berupa vankomisin dan diberi perlakuan bakteri *Staphylococcus epidermidis* [9]. Didapatkan bahwa silikon dilapisi polivinilpirolidon dan dimetilpolisiloksan lalu direndam antibiotik optimal dalam mengurangi bakteri sebesar 99,97% [9].

Tahun 2006 terdapat penelitian terkait *coating shunt* prostesis menggunakan material Quaternary Ammonium Silane dengan metode *spray coating* [10]. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek penghambatannya terhadap perkembangan campuran biofilm jamur dan bakteri pada prostesis ini. Didapatkan hasil yang bahwa pelapis QAS ternyata merupakan pelapis stabil yang tidak sitotoksik pada evaluasi pertama karena keadaan ikatan molekul QAS yang stabil. Dengan demikian, lapisan QAS merupakan strategi baru untuk pencegahan kolonisasi mikroba pada permukaan karet silikon pada prostesis suara, tetapi juga untuk pencegahan kolonisasi mikroba pada perangkat medis secara umum, dan dapat membantu dalam pencegahan resistensi mikroorganisme terhadap antibiotik atau antimikotik [10].

Tahun 2009 terdapat penelitian terkait *coating* menggunakan kitosan dan heparin yang diterapkan pada stent koroner menggunakan metode *layer-by-layer* dengan tujuan mengurangi tingkat trombosis-in-stent yang dapat mengakibatkan infark miokard hingga kematian. Penelitian ini menggunakan uji in vitro pembiakan sel endotel arteri iliaka babi dan uji in vivo menggunakan model cedera koroner babi dan model *shunt* arteriovenosa. Hasil akhir membuktikan bahwa pendekatan pelapisan yang lancar ini dapat secara signifikan mempromosikan re-endothelisasi dan lebih aman dibandingkan dengan stent logam telanjang karena sifat antikoagulannya yang jauh lebih baik [11].

Tahun 2015 terdapat penelitian terkait *shunt* antibakteri dengan lapisan antibiotik berupa rifampicin, trimethoprim, spiramycin, clindamycin hydrochloride, dan diethanolmine fusidate, masing masing cairan antibiotik dijadikan variasi juga beberapa yang dijadikan pasangan seperti trimethoprim-fusidate, trimethoprim-rifampicin, spiramycin-rifampicin, rifampicin-fusidate, dan rifampicin-clindamycin. Proses *coating* dilakukan dengan cara memasukan silikon *shunt* sepanjang 25 cm ke dalam masing masing cairan antibiotik dan didiamkan dalam suhu ruang selama satu jam sambil digoncangkan dan dibilas menggunakan etanol untuk kemudian dikeringkan selama semalam dalam suhu ruang. Setelah proses *coating* selesai selanjutnya dilakukan uji antibakteri menggunakan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. Hasil akhir ditemukan

bahwa campuran rifampicin dan clindamycin hydrochloride merupakan antimikroba terbaik dibandingkan cairan lain [12].

Pada tahun 2022 terdapat penelitian oleh Najla Obaid et al. terkait *coating* kateter urin menggunakan kitosan dengan tujuan mencari kandidat antibakteri terbaik untuk *coating* [7]. Penelitian menunjukkan kemampuan potensial kitosan, tergantung pada berat molekul, untuk bertindak sebagai agen non-antibakteri, antiadhesi dan pencegahan dalam infeksi terkait biofilm, khususnya untuk spesies bakteri yang resistan terhadap berbagai obat di saluran kemih. Namun, karena adanya keterbatasan waktu untuk menguji pelapisan kitosan dengan sel bakteri, maka penelitian belum terbilang sempurna [7].

Beberapa penelitian telah melaporkan terkait *coating shunt* guna mengurangi mortalitas. Tabel 2.1 menunjukkan penelitian tersebut, beserta material dan penggunaannya

Table 2. 1 Penelitian Coating Shunt dan Penggunaannya

No	Peneliti	Material	Metode	Catatan Penting
1	James S. Donahoo et al., 1977 [6]	Grafit Benzalkonium Heparin (GBH)	<i>Coating</i>	Keuntungan dari <i>shunt</i> ini termasuk menghilangkan kebutuhan heparin sistemik, menghindari hipertensi selama <i>crossclamping</i> , dan perfusi sirkulasi distal yang adekuat tanpa pompa sela.
2	Najla A. Obaid et al., 2022 [7]	<i>Chitosan-coating</i>	<i>Dip-Coating</i> pada Kateter	Kitosan bertindak sebagai agen non-antibakteri, antiadhesi dan pencegahan dalam infeksi terkait biofilm, khususnya untuk spesies bakteri yang resisten terhadap berbagai obat di saluran kemih.

No	Peneliti	Material	Metode	Catatan Penting
3	Janine J. H. Oosterhof et al. 2006 [10]	Biocidal ZF, [3-(trimetoksisilil)-propildimetiloktadesilammonium klorida (QAS)	<i>Coating spray</i>	Dilakukan pada <i>shunt</i> prosthesis
4	R. Bayston et al. 2015 [12]	Rifampicin, trimethoprim, spiramycin [Sigma Chemical Company UK), clindamycin hydrochloride (Upjohn Ltd., UK), and diethanolamine fusidate (Leo Pharmaceutical Products, Denmark).	Dilarutkan dalam larutan mikroba	Hasil terbaik didapatkan dari campuran rifampicin dan clindamycin hydrochloride sebagai antimikroba
5	F. Cagavi et al. 2004 [9]	Dimethylpolysiloxane (silikone elastomer) dan Poly vinylpyrrolidone	Uji In Vivo dan In Vitro	Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan karakteristik kolonisasi bakteri dari material <i>shunt</i> elastomer silikon biasa yang dilapisi polivinilpirolidon dan dimetilpolisiloksan (silikon)

No	Peneliti	Material	Metode	Catatan Penting
6	Jaap J. Boelensa et al. 2000 [8]	Antibiotik (gentamisin 600 mg/mL, teicoplanin 135 mg/mL, minocycline 100 mg/mL, flucloxacillin 650 mg/mL dan vankomisin 200 mg/mL), Rifampisin 60 mg/mL, SEpvp (Bioglide)	Merendam pada masing masing larutan (<i>Dip-Coating</i>)	Uji <i>in vivo</i> pada kelinci
7	Sheng Meng et al. 2009[11]	Kitosan & Heparin	Metode <i>Layer-by-layer</i>	Uji <i>in vitro</i> dan uji <i>in vivo</i> pada babi
8.	Penelitian ini	Kitosan cangkang udang & Heparin	Metode <i>Dip-coating</i>	Uji antibakteri dan uji hemolisis

Berdasarkan literatur di atas peneliti akan melakukan penelitian *coating shunt* antibakteri menggunakan kitosan dan heparin, dimana sejak tahun 1977 sampai dengan 2022 telah dilakukan penelitian terkait coating shunt menggunakan material-material yang dianggap dapat memberikan dampak baik dan mengurangi tingkat kegagalan dalam pemasangan shunt. Penelitian ini menggabungkan kedua material yang dinilai dapat memberikan hasil yang baik, yaitu kitosan dan heparin. Kitosan merupakan bahan yang bersifat hidrofilik dan beberapa sifat seperti anti-tumor, antimikroba, *anti-adhesive*, *biodegradable* dan biokompabilitas [13]. Bahan kedua, heparin yang merupakan obat antikoagulan untuk mencegah trombosis atau penggumpalan darah pada otak, sehingga penambahan heparin dinilai dapat memenuhi kebutuhan akan heparin sistemik [6]. Sehingga, adanya penelitian ini dapat memberikan solusi untuk kebutuhan shunt antibakteri dan anti-koagulasi pada pasien hidrosefalus.

2.2 DASAR TEORI

2.2.1 Cairan Serebrospinal (CSS)

Sebagian kecil, ~10-20% CSS diproduksi oleh sel endotel kapiler di parenkim otak [14]. Ia juga dikenal sebagai cairan interstitial otak atau cairan ekstraseluler. Namun, sebagian besar CSS diproduksi oleh pleksus koroid [15]. Produksi CSS terutama disebabkan oleh tiga karakteristik pleksus koroid. Pertama, sel-sel koroid memiliki banyak mikrovili di sisi apikal (menghadap permukaan ventrikel) bersama dengan sejumlah besar *infolding* di sisi basolateral (darah). Kedua, kapiler pleksus memiliki penetrasi dibandingkan dengan kapiler otak. Karakteristik struktural ini memberikan sedikit perlawanan terhadap pergerakan molekul kecil. Ketiga, pleksus koroid memiliki suplai darah yang sangat kaya [15].

2.2.1.1 Aliran CSS (CSS Flow)

Penting untuk mencatat secara singkat sistem anatomi ventrikel otak yang berhubungan dengan aliran CSS. CSS mengalir dari ventrikel lateral melalui *foramina munro* ke dalam ventrikel ketiga. Kemudian melewati saluran air *sylvius* ke ventrikel keempat. Akhirnya, ia keluar dari sistem ventrikel melalui *Foramina Luschka* dan *Magendie* ke dalam ruang *subarachnoid* di mana ia mengisi kanal tulang belakang dan tangki basal otak [14]. Sehingga diyakini bahwa CSS diserap oleh granulasi *arachnoid* dan vili ke dalam sinus sigittal superior otak. Namun, karya Dr. M Johnston menunjukkan data eksperimen kualitatif dan kuantitatif bahwa pembuluh limfatik terletak di luar otak memainkan peran utama dalam penyerapan CSF pada berbagai model [15].

2.2.1.2 Fungsi CSS

Fungsi CSS yang jelas adalah untuk memberikan daya apung dan perlindungan ke otak. Ini secara efektif mengurangi berat otak dari ~1500g menjadi ~50g [16]. CSS juga bertindak untuk menyediakan "*sink*" ke cairan ekstraseluler otak [17]. Cserr menunjukkan bahwa cairan ekstraseluler otak membawa produk yang dimetabolisme dan juga membawa berbagai peptida dari otak ke CSS melalui aliran massal [18].

2.2.2 Hidrosefalus

2.2.2.1 Definisi

Hidrosefalus adalah akumulasi cairan serebrospinal di dalam sistem ventrikel yang mengakibatkan distorsi otak dan peningkatan tekanan intrakranial. Hidrosefalus hanya disebabkan oleh produksi CSS (tumor pleksus koroid) yang berlebihan. Hampir semua kasus hidrosefalus ada beberapa hambatan baik sirkulasi atau penyerapan CSS [1]. Cairan serebrospinal (CSS) diproduksi di dalam ventrikel otak terutama oleh pleksus koroid tetapi dengan kontribusi yang signifikan dari lapisan *ependymal* ventrikel. Pompa natrium yang bergantung pada energi mempertahankan gradien osmotik melintasi sel epitel pleksus koroid, air melewati gradien ini ke dalam ventrikel. CSF mengalir melalui sistem ventrikel melewati ruang subarachnoid melalui *foramina Luschka* dan *Magendie* dari ventrikel keempat. CSS akhirnya diserap ke dalam sistem vena melalui vili *arachnoid* dan granulasi, herniasi kecil dari ruang subarachnoid. Tekanan menumpuk proksimal ke lokasi obstruksi yang menghasilkan gejala dan tanda klinis [1].

2.2.2.2 Klasifikasi Hidrosefalus

a. Hidrosefalus pada bayi.

Pada anak kecil, sutura kranial tetap paten, gejala dan tanda yang muncul meliputi:

- Peningkatan lingkaran kepala
- Ubun-ubun tegang
- Terpisahnya sutura kranial
- Apnea episodik dan bradikardia
- Iritabilitas

b. Hidrosefalus pada anak yang lebih besar dan orang dewasa

Gejala umumnya tidak spesifik, mencerminkan peningkatan tekanan intrakranial:

- Sakit kepala
- Muntah
- Perubahan tingkat kesadaran
- Penglihatan kabur, edema papil
- Gangguan kognitif, konsentrasi buruk, dan gangguan gaya berjalan [1].

2.2.2.3 Pengobatan Hidrosefalus

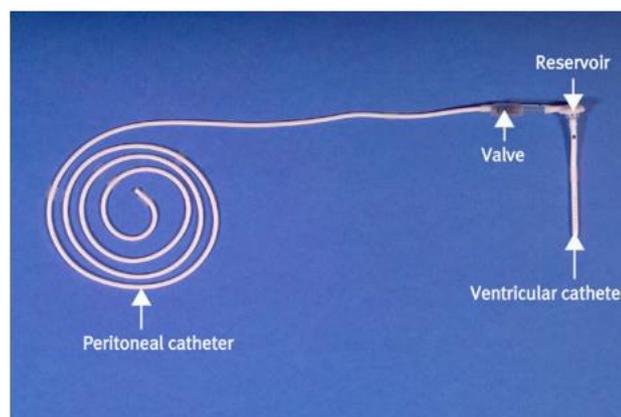
Kebutuhan akan pengobatan didasarkan pada kombinasi gambaran klinis dan temuan radiologis. Ventrikel besar saja bisa tidak memerlukan pengobatan kecuali disertai dengan klinis yang bersangkutan temuan. Pilihan pengobatan yang paling tepat akan ditentukan oleh penyebab hidrosefalus. Obstruksi yang mendasari seperti tumor fossa posterior telah diidentifikasi, pengangkatan tumor mungkin cukup untuk membangun kembali sirkulasi CSS [1]. Pengobatan hidrosefalus adalah pembedahan yang melibatkan pengalihan CSF proksimal ke situs obstruksi. Pengalihan CSS bisa dicapai dengan beberapa cara:

a. *Drainase* ventrikel eksternal

Kateter *silastic* dipasang dalam ventrikel lateral dan terhubung ke eksternal tertutup sistem *drainase* yang akan memberikan bantuan sementara dari peningkatan ICP. Hal ini merupakan perawatan darurat yang berguna ketika CSS sangat banyak bernoda darah atau terinfeksi atau ketika hidrosefalus dianggap sementara misalnya setelah perdarahan subarachnoid atau sebelumnya untuk mengangkat tumor yang menyumbat [1].

b. *Shunt* ventrikel

Perangkat *shunt* adalah andalan pengobatan hidrosefalus. Sistem *shunt* terdiri dari kateter ventrikel, reservoir, dan kateter distal. Seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.1 mengenai komponen shunt.



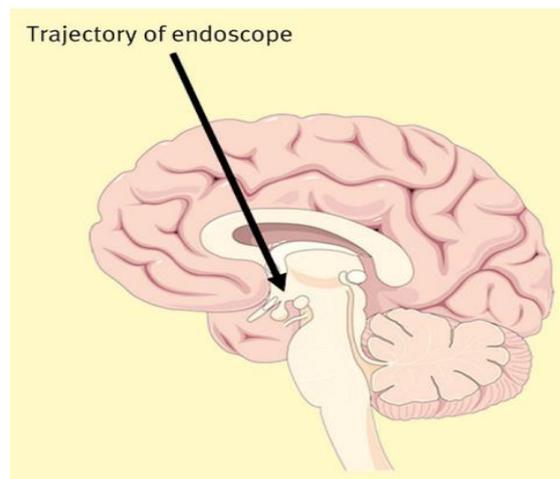
Gambar 2. 1 Komponen Shunt [1].

- **Prosedur** Kateter ventrikel ditempatkan ke dalam ventrikel lateral melalui *burr hole* di *parieto-occipital* atau daerah frontal. Kateter distal dimasukkan secara subkutan dan kemudian ditempatkan di peritoneum (*VP shunt*) melalui

laparotomi mini atau *trocars*. Atrium kanan (VA *shunt*) atau rongga pleura (*shunt* ventrikulopleural). Absorpsi alternatif distal saat penggunaan peritoneum dihalangi (misalnya dengan alasan infeksi lokal, adhesi) [19].

- **Desain *Shunt*** Ada banyak desain katup *shunt* telah dipasarkan tetapi tidak ada desain tunggal yang terbukti efektif di atas yang lain. Paling umum *shunt* diferensial katup tekanan (berdasarkan diafragma membran atau mekanisme bola dan pegas) yang terbuka ketika perbedaan tekanan melintasi katup melebihi "tekanan pembukaan" yang telah ditentukan dan menutup ketika tekanan perbedaan jatuh di bawah ini. Setiap desain biasanya tersedia dalam alternatif tekanan rendah, sedang dan tinggi. Dalam beberapa tahun terakhir, katup yang dapat diprogram secara eksternal memiliki menjadi populer, setelah memasukkan tekanan pembukaan dapat diatur menggunakan magnet atau elektromagnetik perangkat untuk memenuhi persyaratan [19].
- c. Ventrikulostomi ketiga endoskopik (ETV).

Perangkat *shunt* adalah rentan terhadap komplikasi dan antusiasme baru-baru ini untuk teknik endoskopik ventrikulostomi ketiga mencerminkan keinginan ahli bedah saraf untuk menemukan alternatif. Seperti pada Gambar 2.2 yang menunjukkan letak ventrikulostomi ketiga endoskopik.



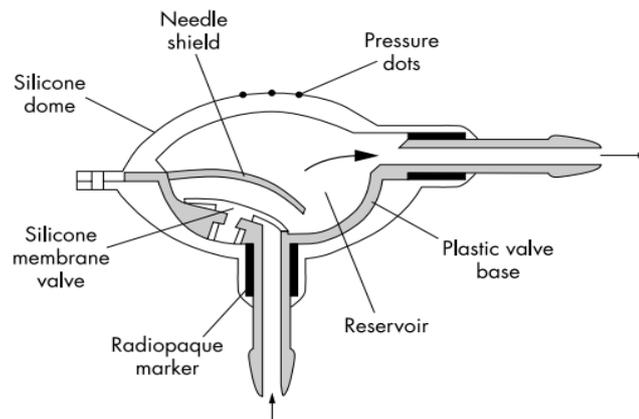
Gambar 2. 2 Ventrikulostomi Ketiga Endoskopik [1].

- **Prosedur ETV** memerlukan pengoperan endoskop ke ventrikel lateral melalui *burr hole* di regio frontal. Melalui endoskopi, foramen Monro diidentifikasi dan melalui ujung ruang lingkup ditempatkan ke dalam yang ketiga ventrikel. Dalam hidrosefalus ventrikel ketiga akan memiliki membesar dan lantainya yang tipis terbentang, lantai ini berlubang dan kemudian diperbesar dengan kateter balon sehingga menciptakan pembukaan buatan ke ruang subarachnoid basal. Teknik ini tidak cocok untuk semua jenis hidrosefalus itu membutuhkan kemampuan CSS untuk beredar melalui ruang subarachnoid dan diserap ke dalam vena sistem dipertahankan. Oleh karena itu, ETV umumnya disediakan untuk kasus hidrosefalus obstruktif pada intinya obstruksi terletak di suatu tempat antara ventrikel ketiga dan aliran keluar dari ventrikel keempat misalnya saluran air stenosis atau tumor fossa posterior. Dimana kista bawaan telah tumbuh dan menyumbat ventrikel atau terkompresi otak atau di mana bagian dari sistem ventrikel telah menjadi neuro-endoskopi terisolasi atau terkotak-kotak digunakan untuk memfenestrasi dinding atau membran kista secara internal sehingga menempatkan kompartemen CSS ke dalam komunikasi. Teknik tersebut dapat digunakan bersamaan dengan *shunt* penempatan dan telah berharga dalam mengurangi kebutuhan untuk pasang beberapa kateter *shunt* [1].

2.2.3 Ventriculo Peritoneal (VP) *Shunt*

Ventriculo Peritoneal (VP) *Shunt* adalah suatu tindakan menghubungkan operasi pemasangan kateter ventrikel serebral dan rongga peritoneum. Tindakan VP *Shunt* bertujuan untuk mengurangi tekanan intrakranial tinggi pada hidrosefalus [19]. Kondisi hidrosefalus dengan perdarahan intraventrikular membutuhkan Ventriculo Peritoneal (VP) *Shunt* segera untuk menghindari defisit neurologis permanen bahkan kematian. Ventriculoperitoneal (VP) *shunting* adalah metode yang disukai dan paling sukses untuk mengelola hidrosefalus. Komplikasi perut termasuk peritonitis, asites, perforasi usus dan dinding perut dan hernia inguinalis. Komplikasi yang tidak umum tetapi diakui adalah pseudokista perut (APC), dengan pengumpulan cairan serebrospinal (CSF) dan menjadi buruk atau tidak diserap di

serosa. Ini menghasilkan peningkatan tekanan di dalam APC, mengurangi gradien tekanan ke depan dan fungsi *shunt* yang optimal [20]. Sebagian besar sistem *shunting* mengalir sesuai dengan diferensial gradien tekanan antara ventrikel dan ujung kateter distal. Katup ini telah terbukti efektif dalam sebagian besar pasien dan katup tipikal. Pada Gambar 2.3 memperlihatkan struktur katup pada *shunt*. Kebanyakan ahli bedah saraf menggunakan katup tekanan sedang meniriskan CSF terus menerus jika tekanan diferensial berakhir sekitar 10 mmHg. Reservoir akses ventrikel ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2. 3 Struktur Katup Shunt CSS Tipikal [21].



Gambar 2. 4 Reservoir Akses Ventrikel Dan Kateter Untuk Pengambilan Sampel Perkuatan CSF [21].

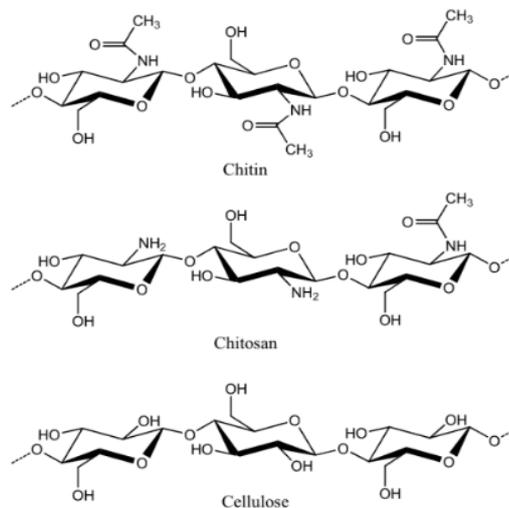
Kateter ventrikel dari *shunt* biasanya dimasukkan melalui *burrhole* di daerah *parietooccipital* kanan dan katup biasanya akan diletakkan di belakang kanan telinga. Kateter distal disalurkan secara subkutan ke bawah sayatan lain di perut tempat ia kemudian ditempatkan rongga peritoneum. Biasanya tidak

membantu bagi non ahli bedah saraf untuk meraba atau membasuh katup *shunt*, seperti kontur dan karakteristiknya sangat bervariasi untuk dibuat interpretasi yang terkenal tidak akurat. Pada pasien tertentu perangkat akses ditempatkan di daerah frontal kanan untuk pemantauan ICP atau pengobatan infeksi. Hal tersebut tidak dapat dibasuh atau dinilai dengan cara apa pun dengan palpasi, tetapi menyediakan fasilitas untuk perkutan yang berpotensi menyelamatkan nyawa aspirasi CSS jika terjadi peningkatan ICP akut [21]. Hal ini bisa dilakukan oleh setiap dokter dalam situasi ini dan hanya melibatkan melewati jarum kupu-kupu melalui kulit yang permukaannya rata di puncak kubah reservoir, sampai "pop" terasa. Sampling elektif dari reservoir atau *shunt* sebaiknya dilakukan oleh ahli bedah saraf, kecuali dokter yang merawat pasien memiliki pengalaman sebelumnya dalam teknik. Katup tekanan diferensial memungkinkan efek menyedot di posisi tegak dan ini dapat menyebabkan drainase CSS yang berlebihan dari ventrikel. Beberapa sistem sekarang menggabungkan perangkat *anti-siphon* untuk memperbaiki efek ini. Katup yang “dapat diprogram” atau dapat disesuaikan memungkinkan penutupan tekanan untuk diubah secara eksternal menggunakan magnet khusus menyesuaikan perangkat. Meskipun ini terkadang sangat berguna pada pasien *shunt* tertentu dengan sakit kepala yang tidak dapat disembuhkan, hal itu dapat terjadi menyebabkan masalah setelah perubahan tekanan yang tidak disengaja—misalnya, dengan melakukan pemindaian MRI atau, kurang jelas, dengan menggunakan headphone dan telepon nirkabel tertentu. Katup yang dikontrol aliran, seperti katup Orbis-Sigma, miliki pola drainase CSF yang lebih fisiologis, tetapi sebenarnya tidak tampaknya efektif dalam hidrosefalus tekanan normal atau di mana kepatuhan otak buruk (disebut "ventrikel rapuh") [21].

2.2.4 Kitosan

Kitosan adalah polimer asetil yang terdeasetilasi sebagian glukosamin (2 acetamido-2-deoxy b-1,4-D-glukan) [13]. Kitosan pada dasarnya adalah turunan selulosa alami yang larut dalam air serta memiliki sifat yang unik. Kitosan digunakan sebagai flokulan, *clarifier*, pengental, serat, film, selektif gas membran, promotor ketahanan penyakit tanaman, agen anti kanker, agen yang mempromosikan penyembuhan luka dan agen antimikroba. Ini dapat digunakan dalam makanan hewan dan status GRAS (*Generally Recognized as Safe*) telah

diterapkan. Kitosan digunakan sebagai bantuan pemrosesan dan sedang diuji coba untuk aplikasi dalam pengawetan buah, pembalut luka, kosmetik, organ buatan dan farmasi. Kitosan biasanya dibuat dari kitin dan kitin telah ditemukan di berbagai sumber alami (krustasea, jamur, serangga, annelida, moluska, coelenterata dll). Namun kitosan hanya diproduksi dari krustasea (kepiting, kril dan udang karang) terutama karena jumlah yang besar exoskeleton krustasea tersedia sebagai produk sampingan dari pengolahan makanan [22]. Struktur dari kitin, kitosan dan selulosa ditunjukkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2. 5 Struktur Dari Kitin, Kitosan dan Selulosa [22].

Biopolimer dicirikan sebagai kitin atau kitosan sesuai dengan derajatnya deacetylation (DD) yang ditentukan oleh proporsi D-glucosamine dan N-acetyl-D-glucosamine. Secara struktural, kitosan merupakan kopolimer rantai lurus yang terdiri dari D-glucosamine dan N-acetyl-D-glucosamine diperoleh dengan deasetilasi parsial kitin. Kitosan adalah biopolimer dasar yang paling melimpah dan secara struktural mirip dengan selulosa, yang terdiri dari hanya satu monomer glukosa. Kitosan dianggap sebagai salah satu polimer paling berharga untuk pengaplikasian di bidang biomedis dan farmasi karena biodegradabilitas, biokompatibilitas, antimikroba, non-toksitas, dan sifat anti tumor. Partikel nano, mikrosfer, hidrogel, film, dan serat adalah tipikal bentuk berbasis kitosan untuk aplikasi biomedis dan farmasi. Contoh seperti itu aplikasi termasuk pengiriman obat hidung, mata, oral, parenteral dan transdermal [22].

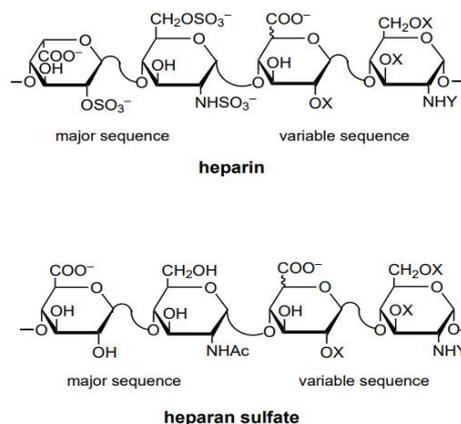
Hidrogel kitosan yang terhubung silang sebagai perancah rekayasa jaringan yang potensial dapat disiapkan oleh reaksi dasar schiff antara N-suksinil-kitosan dan gugus aldehida dari asam hialuronat teroksidasi. Enkapsulasi kondrosit sapi dalam ikatan silang hidrogel menunjukkan bahwa hidrogel komposit mendukung kelangsungan hidup sel dan sel mempertahankan morfologi kondrositik. Hidrogel adalah kandidat yang menarik untuk jaringan regenerasi karena struktur meniru matriks ekstraseluler dan kemampuan untuk membentuk di bawah kondisi ringan. Mikrosfer kitosan sebagai pembawa obat pengiriman dapat disiapkan oleh air dalam minyak metode difusi pelarut emulsi, menjadi etil asetat fase minyak. Kitosan telah banyak digunakan di banyak bidang, seperti fotografi, bioteknologi, kosmetik, pengolahan makanan, produk biomedis (kulit buatan, pembalut luka, kontak lensa, dll.), sistem pembebasan terkontrol obat-obatan (kapsul dan mikrokapsul), pengolahan limbah industri untuk menghilangkan ion logam dan pewarna. Gugus amino bertanggung jawab atas karakteristik berbeda yang dikaitkan dengan polimer dasar ini (dibandingkan dengan biopolimer asam). Oleh karena itu, karakterisasi polimer baik dalam kitin maupun kitosan sangat penting menurut hubungan struktur-sifat, yang menentukan kemungkinan aplikasi industri [22].

2.2.5 Heparin

Heparin, obat antikoagulan, dikenal luas sebagai polisakarida yang penting secara biologis dan unik secara kimiawi. Heparin ditemukan pada tahun 1916 oleh Jay McLean, tahun kedua mahasiswa kedokteran, bekerja di bawah arahan ahli fisiologi William Howell di Universitas Johns Hopkins [23]. Pemahaman tentang struktur heparin berkembang secara bertahap. Pada tahun 1928 Howell dengan benar mengidentifikasi salah satu gula dalam heparin menjadi asam uronat, dan pada tahun 1935 ± 1936 Jorpes dan Bergstrom menemukan glukosamin menjadi komponen gula kedua dalam heparin. Jorpes dan kemudian Charles menetapkan bahwa heparin mengandung tingkat tinggi sulfat yang terhubung secara kovalen menjadikannya salah satu asam terkuat di alam. Studi selanjutnya juga mengidentifikasi keterkaitan antara C-1 glukosamin dan C-4 dari asam uronat dan lokasi gugus O-sulfo. Efektivitas pengobatan heparin dalam pencegahan pasca operasi trombosis dengan cepat dibentuk melalui pekerjaan Crafoord and Best, dan

praktik medis ini berlanjut sampai hari ini. Namun, penggunaan heparin juga menimbulkan sisi yang tidak diinginkan seperti komplikasi perdarahan atau yang diinduksi heparin trombotopenia (HIT). Komplikasi ini, membaik pemahaman tentang kaskade koagulasi, dan fraksinasi heparin menyebabkan pengembangan fraksi heparin berat molekul rendah dengan kimia yang lebih baik dan sifat biologis [23].

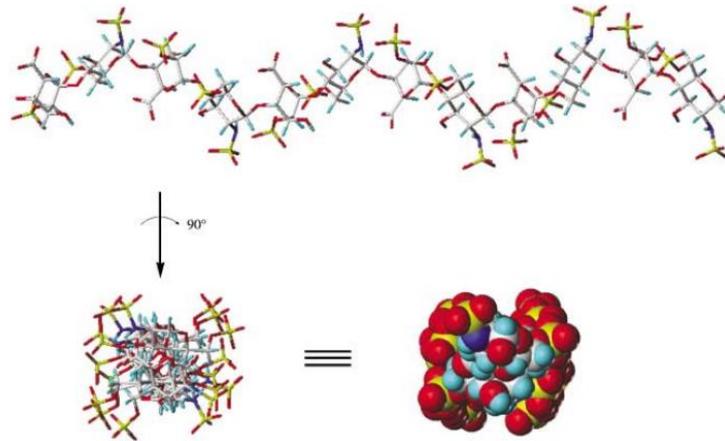
Heparin adalah polimer linier yang terdiri dari unit berulang 1-residu 4-linked pyranosyluronic acid dan 2-amino-2 deoxyglucopyranose (glucosamine). Residu asam uronat biasanya terdiri dari 90% asam L-idopyranosyluronic (asam L iduronic) dan 10% asam D-glucopyranosyluronic (D- asam glukoronat). Gambar 2.6 menunjukkan struktur kimia dari heparin. Heparin memiliki kepadatan muatan negatif tertinggi dari setiap makromolekul biologis yang diketahui. Ini adalah hasil dari kandungan gugus sulfo dan karboksil bermuatan negatif yang tinggi. Kompleksitas struktural heparin dapat dipertimbangkan pada beberapa tingkatan. Pada tingkat proteoglikan (PG), jumlah rantai polisakarida (atau glikosaminoglikan) yang berbeda (mungkin memiliki urutan sakarida yang berbeda) dapat melekat pada berbagai residu serin yang ada dalam protein inti heparin [23].



Gambar 2. 6 Unit Pengulangan Disakarida Mayor dan Minor Dalam Heparin dan Heparin Sulfat (X=H atau SO₃⁻, Y = Ac, SO₃⁻, atau H) [23].

Heparin adalah polisakarida linier, tidak bercabang, dan bersifat sangat sulfat yang terdapat terutama pada sebagai struktur heliks. Tidak seperti protein, heparin tidak diketahui menampilkan atau melipat menjadi struktur tersier tertentu. Spesifisitas interaksinya dengan beragam protein penting secara biologis

menunjukkan bahwa ia menampilkan gugus sulfo dan karboksilnya dalam pola dan orientasi yang ditentukan untuk mendorong interaksi protein spesifik. Fleksibilitas konformasi residu asam L-iduronat dalam heparin diyakini bertanggung jawab atas berbagai interaksi protein spesifik yang ditunjukkan oleh keluarga GAGs ini [23].



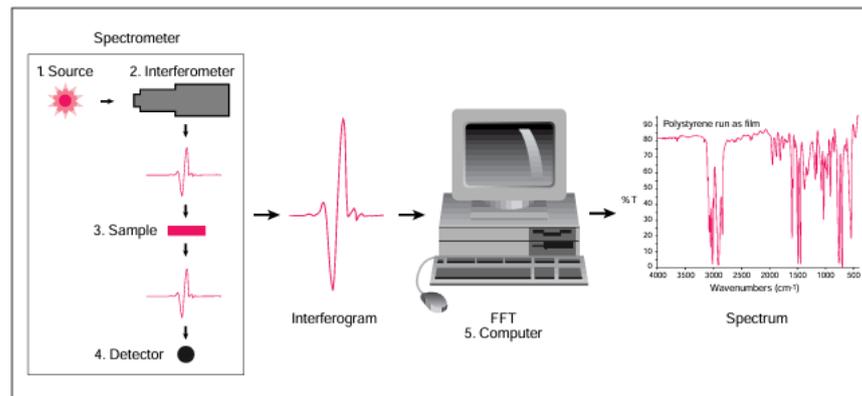
Gambar 2. 7 . Konformasi Heliks Heparin [23].

Pada Gambar 2.7 urutan dodekasakarida heparin yang memiliki pengulangan disakarida utama struktur ditunjukkan dengan atom belerang (kuning), atom oksigen (merah), atom nitrogen (biru) dan hidrogen atom (hijau tosca).

2.2.6 Uji FTIR

Fourier Transform Inframerah (FTIR) telah dikembangkan sebagai alat untuk penentuan komponen organik secara simultan, termasuk ikatan kimia, serta kandungan organik (misalnya protein, karbohidrat, dan lipid). Dalam prosedur analisis FTIR, sampel dikenai radiasi infra merah (IR). Radiasi IR kemudian berdampak pada getaran atom suatu molekul dalam sampel, sehingga mengakibatkan penyerapan dan/atau transmisi energi tertentu. Hal ini membuat FTIR berguna untuk menentukan getaran molekul spesifik yang terkandung dalam sampel [24].

Karena analisis memerlukan spektrum frekuensi (plot intensitas pada setiap frekuensi individu) untuk melakukan identifikasi, sinyal interferogram yang diukur tidak dapat diinterpretasikan secara langsung. Diperlukan sarana untuk “menguraikan” frekuensi individu. Hal ini dapat dicapai melalui teknik matematika terkenal yang disebut transformasi Fourier. Transformasi ini dilakukan oleh komputer yang kemudian menyajikan informasi spektral yang diinginkan kepada pengguna untuk dianalisis[25]. Skema kerja FTIR ditunjukkan pada Gambar 2.8.



Gambar 2. 8 Skema FTIR [25].

Karena perlu adanya skala relatif untuk intensitas serapan, maka spektrum latar belakang juga harus diukur. Ini biasanya merupakan pengukuran tanpa sampel dalam berkasnya. Hal ini dapat dibandingkan dengan pengukuran dengan sampel dalam berkas sinar untuk menentukan “persen transmisi”. Teknik ini menghasilkan spektrum yang seluruh karakteristik instrumentalnya dihilangkan. Jadi, semua fitur spektral yang ada sepenuhnya disebabkan oleh sampel. Pengukuran latar belakang tunggal dapat digunakan untuk banyak pengukuran sampel karena spektrum ini merupakan karakteristik instrumen itu sendiri [25].

Proses instrumental yang normal adalah sebagai berikut:

1. Sumber: Energi inframerah dipancarkan dari sumber benda hitam yang bersinar. Sinar ini melewati celah yang mengontrol jumlah energi yang diberikan ke sampel (dan, pada akhirnya, ke detektor).
2. Interferometer: Sinar memasuki interferometer tempat “pengkodean spektral” berlangsung. Sinyal interferogram yang dihasilkan kemudian keluar dari interferometer.
3. Sampel: Sinar memasuki kompartemen sampel dan diteruskan atau dipantulkan dari permukaan sampel, tergantung pada jenis analisis yang dilakukan. Di sinilah frekuensi energi tertentu, yang merupakan karakteristik unik dari sampel, diserap.
4. Detektor: Sinar akhirnya diteruskan ke detektor untuk pengukuran akhir. Detektor yang digunakan dirancang khusus untuk mengukur sinyal interferogram khusus.

5. Komputer: Sinyal yang diukur didigitalkan dan dikirim ke komputer tempat terjadinya transformasi Fourier. Spektrum inframerah akhir kemudian disajikan kepada pengguna untuk interpretasi dan manipulasi lebih lanjut [25].

2.2.7 Uji Anti bakteri

Uji antibakteri dilakukan untuk mengetahui pengaruh kitosan terhadap aktivitas antibakteri. Penentuan setiap aktivitas bakteri terhadap suatu obat adalah dengan menentukan kadar obat terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri in vitro.

2.2.7.1 Metode Difusi

Pada metode ini, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi zat antibakteri dalam media agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang akan terbentuk disekeliling sampel pada waktu tertentu masa inkubasi [26]. Pengukuran zona hambat bakteri dengan menggunakan jangka sorong. Ketentuan perhitungannya, apabila ada diameter zona hambat yang besar dan kecil maka keduanya dijumlah kemudian dibagi dua dan dicatat. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali dan diambil rata-rata. Pengukuran zona dapat diukur menggunakan rumus [27]:

$$Zona = \frac{(Dv+Dh+Dd)}{3} - Dc \quad (1)$$

Keterangan:

Dv = Diameter vertikal

Dh = Diameter horizontal

Dd = Diameter diagonal

Dc = Diameter cakram

Tingkat antibakteri suatu material diklasifikasikan ke dalam beberapa kategori seperti yang ditunjukkan dalam tabel 2.2 [28].

Table 2. 2 Klasifikasi Tingkat Antibakteri Menurut Diameter Zona Hambat

Diameter (mm)	Tingkat antibakteri
0-3	Lemah
3-6	Sedang

>6	Kuat
----	------

2.2.8 Uji Hemolisis

Hemolisis pada dasarnya dihasilkan dari peningkatan tekanan osmotik sel darah merah (sel darah merah). Selama hemolisis, sel darah merah pecah dan hemoglobin dilepaskan dari sel darah merah. Persentase hemolisis (HP) menunjukkan tingkat kerusakan sel darah merah oleh sampel yang bersentuhan dengan darah utuh. Semakin banyak jumlah sel darah merah yang rusak maka semakin besar pula nilai HRnya. Kemudian hasil akhir supernatan dibaca absorbansinya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Persentase hemolitik (HP) bisa dihitung menggunakan persamaan berikut [29].

$$HP(\%) = \frac{(D_t - D_{nc})}{(D_{pc} - D_{nc})} \times 100 \quad (2)$$

Keterangan:

D_t = Absorbansi sampel

D_{nc} = Absorbansi negatif kontrol

D_{pc} = Absorbansi positif kontrol

Berdasarkan perhitungan pada persamaan 2, hasil akan dikategorikan pada tabel 2. Agar kesesuaian sistem dapat dipastikan, kontrol negatif harus memiliki nilai rata-rata % hemolisis terkoreksi blanko <2% dan kontrol positif harus memiliki nilai rata-rata % hemolisis terkoreksi blanko >5%. Jika indeks hemolitik menghasilkan nilai kurang dari nol, nilai tersebut dilaporkan sebagai 0,0 [30].

Table 2. 3 Test Scoring Index Hemolitik

<i>Hemolytic Index</i>	<i>Hemolytic Grade</i>
0% - <2%	<i>Non-Hemolytic</i>
2% - 5%	<i>Slightly Hemolytic</i>
>5%	<i>Hemolytic</i>