

## **PERBANDINGAN METODE PENGERINGAN TERHADAP RESORBSI AMNION DALAM LARUTAN *SIMULATED BODY FLUID* (SBF)**

Nani Suryani

Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi - BATAN.

### **ABSTRAK**

**PERBANDINGAN METODE PENGERINGAN TERHADAP RESORBSI AMNION DALAM LARUTAN *SIMULATED BODY FLUID* (SBF).** Telah dilakukan percobaan resorpsi membran amnion kering udara (*air dried*) dan amnion *lyofilisasi* di dalam larutan SBF. Sembilan (9) lembar membran amnion *lyofilisasi* dan amnion kering udara steril berukuran 3 x 3 cm, masing-masing dimasukkan dalam sembilan buah botol yang berisi 25 ml larutan SBF dengan pH 7.40. Sampel di inkubasi pada suhu 37<sup>o</sup> C selama 1 minggu. Setelah hari ke tujuh membran amnion yang tersisa dicuci dengan aquadest steril, lalu dikeringkan dalam oven suhu 60<sup>o</sup>C selama 24 jam, kemudian ditimbang beratnya. Percobaan ini dilakukan sampai didapatkan bobot tetap. Hasil menunjukkan bahwa amnion *lyofilisasi* dapat diresorpsi lebih cepat dibandingkan dengan amnion kering.

### **ABSTRACT**

**COMPARATION OF DRYING METHOD ON THE AMNION RESORPTION IN THE SBF SOLUTION.** Resorption experiment of air dried and lyophilization amnion in the SBF have been done. Nine pieces of irradiation sterilized air dried and lyophilized amnion membranes (3 x 3 cm<sup>2</sup>), were soaked into 9 glass bottles containing 25 ml of SBF solution (pH 7.40), respectively. The samples were incubated at 37<sup>o</sup>C for 1 week. After the seven<sup>th</sup> day, the remaining of amnion in the bottles were washed with distilled water and dried in an oven at 60<sup>o</sup>C for 24 hours, and weighed. The experiments were conducted up to constant weight. The results showed that the lyophilization amnion can be resorbed more quickly than that dried amnion.

### **PENDAHULUAN**

Amnion adalah selaput ketuban bagian dalam yang langsung berhubungan dengan air ketuban, berasal dari plasenta bayi. Sebagai bagian dari bayi, amnion mempunyai efek *angiogenik* dan merangsang terjadinya granulasi pada luka. Secara fisik, amnion mempunyai sifat yang lentur, kuat dan transparan sehingga dapat menutup permukaan luka dengan kuat dan secara kimia, amnion bersifat sebagai antimikroba yang berfungsi untuk menurunkan populasi mikroba patogen pada luka infeksi [1]. Amnion juga diduga mengandung asam hioloronat yang berfungsi untuk mencegah terjadinya jaringan parut pada bekas luka setelah sembuh [2].

Amnion tidak dapat disimpan dalam keadaan segar, karena akan cepat mengalami pembusukan. Hal ini disebabkan karena amnion terdiri dari protein dan asam amino yang sangat disukai oleh mikroba. Beberapa faktor yang dapat

mempengaruhi perkembangbiakan mikroba antara lain: kandungan gizi, kadar air, suhu, nilai pH, kondisi atmosfer, faktor kimia dan penyinaran. Oleh sebab itu agar amnion dapat disimpan dalam waktu yang cukup lama dan selalu tersedia bila diperlukan, perlu dilakukan pemrosesan. Proses pengeringan amnion di Bank Jaringan riset Batan dilakukan dengan 2 metode yaitu dengan *liofilisasi* dan suhu ruangan (air dried), *Liofilisasi* adalah penghilangan air melalui sublimasi, yakni perubahan wujud padat (es) langsung menjadi wujud gas (uap) sehingga menghambat aktifitas mikroorganisme dan enzim yang secara normal dapat mendegradasi senyawa di dalam bahan biologi. Dengan kata lain, pengeringan dengan cara ini dapat mengurangi kerusakan jaringan secara minimal. Amnion sebagai salah satu jaringan biologi mengandung bermacam-macam senyawa organik yang dibutuhkan sebagai *growth factor* seperti *transforming growth factor* (TGF) [3].

Sebagai bahan biologi yang digunakan baik sebagai penutup luka maupun sebagai implan, amnion harus steril. Salah satu cara sterilisasi yang baik adalah menggunakan radiasi sinar gamma dari Co-60. Menurut ISO 11137 (2006) [4], sterilisasi peralatan medis dapat dilakukan dengan dosis 15 kGy atau 25 kGy, sesuai dengan kandungan angka kuman awal dari produk tersebut. Semakin rendah angka kuman awal, semakin kecil dosis sterilisasi yang diberikan dan semakin kecil kerusakan bahan biologi yang ditimbulkan.

Sebagai produk untuk implantasi, amnion harus dapat diresorpsi sehingga tidak meninggalkan sisa pada tempat operasi, selain itu dapat merangsang pertumbuhan jaringan baru, yang dapat mempercepat proses penyembuhan juga tidak menimbulkan jaringan parut. Amnion dapat digunakan pada oftalmologi untuk reseksi kornea dan defek kornea dari berbagai sebab [2,3]. Di samping itu amnion juga dapat diimplantasikan dalam jaringan gusi untuk memperbaiki warna gusi [5].

Sehubungan dengan kegunaan amnion untuk implantasi, maka pengujian degradasi membran amnion radiasi perlu dilakukan. Pengujian ini dilakukan secara *in-vitro* dengan menggunakan larutan *SBF* pada suhu 37 °C.

Tujuan percobaan ini adalah untuk mendapatkan data dan informasi secara ilmiah tentang tingkat resorpsi dari membran amnion *liofilisasi* dan membrane

amnion *air dried* tersebut didalam larutan *Simulated Body Fluid (SBF)* secara *in-vitro*.

## BAHAN DAN METODE

### 1. Bahan

Membran amnion *liofilisasi* dan amnion *air dried* berukuran : 3 x 3 cm, masing-masing berjumlah 9 lembar. Larutan *SBF (Simulated Body Fluid)* terdiri dari campuran beberapa senyawa (garam) kimia sebagai berikut: NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, KCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2 H<sub>2</sub>O; MgCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan (CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub> dan aquadest steril.

### 2. Peralatan

Botol sampel, pinset, pipet takar, Erlenmeyer 1000 ml, oven bersuhu 60°C, desikator, inkubator dan neraca analitis.

### 3. Tata Kerja

#### a. Pembuatan larutan *SBF*.

Untuk membuat 1 liter larutan *SBF* dilakukan dengan menimbang:

- NaCl	: 6,547 gram,	- MgCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	: 0.305 gram
- NaHCO <sub>3</sub>	: 2,268 gram,	- CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	: 0.368 gram
- KCl	: 0,373 gram,	- Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	: 0.071 gram
- Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	: 0,178 gram,	- (CH <sub>2</sub> OH) <sub>3</sub> CNH <sub>2</sub>	: 6,051 gram

kemudian dilarutkan dengan aquadest steril hingga volume 1 liter, pH larutan ditepatkan dengan larutan HCl 0,1 N menjadi 7,40.

#### b. Persiapan percobaan

Kedalam botol sampel yang telah disterilkan terlebih dahulu dipipetkan 25 ml larutan *SBF* (9 botol untuk amnion *liofilisasi* dan 9 botol untuk amnion *air dried*, kemudian secara bersamaan kedalam masing-masing botol tersebut dimasukan graf amnion *liofilisasi* dan amnion *air dried* (9) yang telah diketahui beratnya. Digoyang-goyang agar amnion dapat tenggelam. Kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 7 hari. Setelah di inkubasi selama 7 hari, lembaran membran amnion yang masih tersisa dari masing-masing botol diambil dan dibilas dengan aquadest steril,

kemudian dikeringkan pada oven bersuhu 60°C selama 24 jam. Sampel dimasukkan dalam desikator selama lebih kurang 1 jam dan beratnya ditimbang, sampel dikeringkan kembali kedalam oven bersuhu 60 C selama 4 jam dan didinginkan dalam desikator, ditimbang kembali. Pekerjaan diatas dilakukan ber-ulang-ulang sampai didapatkan bobot tetap Persentase Resorpsi membran amnion dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% T = \frac{W_o - W_s}{W_o} \times 100 \%$$

dimana : % T = persentase sampel terserap

W<sub>o</sub> = berat sample (awal) dan W<sub>s</sub> = berat sampel tersisa.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Resorpsi membran amnion *liofilisasi* steril radiasi ditampilkan pada Tabel 1. sedangkan untuk amnion *air dried* ditampilkan pada Tabel 2.

**Tabel 1.** Hasil resorpsi membran amnion *liofilisasi* radiasi dalam larutan *SBF*

No. kode (sampel)	Berat (awal) sampel (W <sub>o</sub> )	Berat (sisa) sampel (W <sub>s</sub> )	Berat sampel terserap (W <sub>o</sub> -W <sub>s</sub> )	% sampel terserap	Rata-rata % Terserap
74-01	0,0064	0,0036	0,0027	42,18	41,25
74-02	0,0062	0,0037	0,0025	40,32	
74-03	0,0063	0,0037	0,0026	41,26	
75-01	0,0060	0,0036	0,0024	40,00	40,01
75-02	0,0061	0,0037	0,0024	39,34	
75-03	0,0059	0,0035	0,0024	40,68	
76-01	0,0062	0,0037	0,0025	40,32	40,85
76-02	0,0061	0,0036	0,0025	40,98	
76-03	0,0063	0,0037	0,0026	41,26	

**Tabel 2.** Hasil resorpsi membran amnion kering udara radiasi dalam larutan *SBF*

<u>No.kode (sampel)</u>	<u>Berat sampel Awal (Wo)</u>	<u>Berat sample Sisa (Ws)</u>	<u>Berat sample terserap (Wo-Ws)</u>	<u>% resorpsi sampel</u>	<u>% resorpsi rata-rata sampel</u>
70-01	0,0065	0,0043	0,0022	33,85	32,80
70-02	0,0063	0,0043	0,0020	31,75	
70-03	0,0064	0,0043	0,0021	32,81	
71-01	0,0063	0,0042	0,0021	33,33	33,66
71-02	0,0062	0,0042	0,0020	32,26	
71-03	0,0065	0,0043	0,0022	35,38	
72-01	0,0062	0,0043	0,0019	30,65	30,47
72-02	0,0061	0,0043	0,0018	29,51	
72-03	0,0064	0,0044	0,0020	31,25	

Tabel 1 diatas menjelaskan tentang data dan hasil percobaan untuk sampel membran amnion *liofilisasi* radiasi sebagai berikut. Dari tiga kelompok nomor sampel yang dijadikan sebagai contoh dalam percobaan ini yaitu nomor 74,75 dan 76 didapat hasil sebagai berikut:

- Sampel nomor 74, persentase rata-rata degradasi adalah 41,25 %
- Sampel nomor 75, persentase rata-rata degradasi adalah 40,01 %
- Sampel nomor 76, persentase rata-rata degradasi adalah 40,85 %.

Dari ketiga kelompok sampel terlihat bahwa tidak ada perbedaan yang nyata dari masing-masing sampel, artinya amnion yang larut dalam larutan *SBF* tidak memberi pengaruh yang berbeda pada sampel dengan metode pengeringan yang sama (*liofilisasi*).

Tabel 2 menjelaskan tentang data dan hasil percobaan untuk sampel membran amnion kering udara steril radiasi dengan hasil sebagai berikut:

- Sampel nomor 70, persentase rata-rata degradasi adalah 32,80 %
- Sampel nomor 71, persentase rata-rata degradasi adalah 33,66 % dan
- Sampel nomor 72, persentase rata-rata degradasi adalah 30,47 %.

Persentase rata-rata dari ketiga sampel membran amnion kering udara steril radiasi adalah 32,31 %. Dari kedua cara pengeringan diatas (*liofilisasi* dan kering udara) memperlihatkan perbedaan degradasi amnion dalam *SBF* yaitu 40,70% dan 32,31% bahwa daya serap amnion *liofilisasi* lebih besar dibandingkan dengan amnion kering udara, karena jaringan amnion bila dikeringkan pada suhu ruang dengan tiupan udara, pori-pori jaringan tersebut akan mengerut, dan akibatnya daya

serapnya akan lebih kecil. Sedangkan untuk amnion hasil *liofilisasi* struktur jaringannya hampir mirip dengan jaringan yang masih segar, bila amnion *liofilisasi* direndam dalam air, air akan masuk ke dalam kisi-kisi jaringan., semakin banyak air yang terserap akan semakin tinggi kemampuan larutan *SBF* memdegradasi amnion. Jadi metode pengeringan berpengaruh terhadap resorpsi amnion dalam larutan *SBF*.

## **KESIMPULAN**

Dari percobaan ini dapat disimpulkan bahwa: Resorpsi membran amnion *liofilisasi* lebih besar daripada amnion kering udara (*air dried*) dalam larutan *SBF*.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Bapak Ir.Basril Abbas yang telah membantu dalam penulisan makalah ini.

## **DAFTAR PUSTAKA**

1. ABBAS, B, HILMY, N, dan HARDININGSIH, L. Kombinasi Perlakuan Iradiasi dan zat kimia untuk meningkatkan sifat-sifat Fisika Jaringan Amnion. Risalah Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN (1992) 54- 62.
2. ISO 11137-1:2006 *Sterilization of health products – Radiation – Part 1: Requirements for the development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices.*
3. ABBAS, B and HILMY N. Daya Hambat Amnion *Liofilisasi* Radiasi terhadap Pertumbuhan beberapa Mikroba Patogen. Risalah Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN, 13- 15 Desember (1994) 121-127.
4. PRABASAWAT,P, BARTON, K, BURKETT, G, and TSENG, SC. Comparison of Conjunctival Autografts, Amniotic Membrane Grafts, and Primary Closure for Pterygium Excision. *Ophthalmology.* 1046 974 – 985 (1997).
5. ANONYMOUS. Multi- Media Distance Learning Package on Tissue Banking – Modul 5, Prosesing. National University of Singapore, IAEA/NUS Regional Training Centre, Singapore (1997).