

HIDROGEL HASIL IRADIASI SEBAGAI MATRIKS PENGEKANG HORMON.

Erizal*, Rahayu C*, M. Yoshida**, M. Kamakura**
*)Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi - Badan Tenaga Atom Nasional
)Japan Atomic Energy Research Institute, Takasaki - Japan

ABSTRAK

HIDROGEL HASIL IRADIASI SEBAGAI MATRIKS PENGEKANG HORMON. Telah dipelajari mengenai pekekangan hormon menggunakan matriks hidrogel hasil iradiasi yang peka pada perubahan suhu. Campuran komonomer (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20% vol.) dalam N₂ diiradiasi dengan sinar γ pada dosis 30 kGy (laju dosis = 10 kGy/j). Matriks kopolimer (panjang = 30 mm, diameter = 10 mm) hasil iradiasi selanjutnya direndam dalam larutan testosteron dengan konsentrasi 1; 5 dan 15% (b/v) selama \pm 5 hari pada suhu 6°C. Sifat air serapan dari hidrogel pada perubahan suhu, jumlah testosteron yang diserap, dan jumlah testosteron yang lepas sebagai fungsi suhu dan waktu telah dievaluasi. Hasil menunjukkan hidrogel kopolimer (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20, % vol.) peka pada perubahan suhu 6-40°C, jumlah testosteron yang diserap oleh hidrogel setelah perendaman dalam larutan testosteron adalah 0,865; 6,205; dan 20,705 mg/cm³, dan pada pengujian sifat lepas testosteron dari matriks hidrogel sebagai fungsi suhu didapatkan suhu minimum pelepasan testosteron yang berbeda yaitu suhu 40°C bagi matriks yang mengandung hormon 0,865 mg/cm³ dan suhu minimum 20°C bagi matriks hidrogel yang mengandung testosteron 6,205 dan 20,705 mg/cm³. Jumlah testosteron yang lepas dari hidrogel sebagai fungsi waktu menunjukkan fungsi linier.

ABSTRACT

A THERMO-SENSITIVE HYDROGEL PREPARED BY IRRADIATION FOR IMMOBILIZATION OF A HORMONE. Immobilization of a hormone by using a thermo-sensitive hydrogel prepared by irradiation has been studied. A mixture of comonomer (A-L-Pro (OMe)/HPMA, 80/20, % v/v) was irradiated in N₂ atmosphere by γ rays at a dose of 30 kGy (dose rate = 10 kGy/h). The dried matrix (length = 30 mm, i.d = 10 mm) was soaked in the testosterone solution with the concentrations of 1, 5 and 15% (w/v) for at least 5 days. The water absorption of the hydrogel, amount of testosterone absorbed and amount testosterone released as a function of temperature and time have been evaluated. The results showed that the hydrogel of copoly (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20, % v/v) was a thermo-sensitive at a range temperatures of 6-40°C, the amount of testosterone of absorbed into the hydrogel was increased with increasing the concentration (0.865, 6.205 and 20.706 mg/cm³), at the measurement of the testosterone released from the hydrogel as a function of temperature the minimum temperature of the testosterone released was 40°C for the hydrogel containing testosterone of 0.865 mg/cm³, and at 20°C for the hydrogel containing testosterone of 6.205 and 20.706 mg/cm³. The amount of testosterone released from the hydrogel as a function of time were found linear.

PENDAHULUAN

Hidrogel adalah suatu jenis polimer yang dapat mengabsorpsi air dengan jumlah yang relatif besar. Hidrogel dapat disintesis dengan polimerisasi atau kopolimerisasi bermacam jenis monomer hidrofilik dengan suatu monomer pembentuk ikatan silang dalam jumlah yang relatif kecil. Hidrogel yang sensitif terhadap perubahan lingkungan misalnya perubahan pH atau perubahan suhu pada interval perubahan yang relatif kecil disebut sebagai stimulisensitif polymer, merupakan salah satu jenis hidrogel yang pada waktu belakangan ini secara intensif banyak dikembangkan [1-7]. Hoffman

dkk. [7] mensintesis hidrogel yang sensitif terhadap perubahan suhu dari reaksi kopolimerisasi monomer N-Isopropilakrilamida dengan monomer asam metakrilat. Hidrogel ini digunakan sebagai matriks yang dapat berfungsi reversibel pada pekekangan dan pelepasan zat bioaktif pada selang perubahan suhu yang relatif kecil (20 - 50 °C).

Penelitian ini bertujuan membuat hidrogel yang sensitif terhadap perubahan suhu menggunakan kopolimer (A-L-Pro(OMe)/HPMA) dengan iradiasi dan menguji sifat pekekangan dan pelepasan hormon testosteron secara *in vitro*.

BAHAN

Akrioloil-L-prolin metilester (A-L-Pro (OMe)) diperoleh dari Kokusan Chemical Works, Tokyo, Jepang. Hidroksipropilmetakrilat (HPMA) diperoleh dari Shin-Nakamura Chemical Co. Osaka, Jepang. Testosteron buatan Merk. Perekasi lainnya dengan kualitas p.a.

TATA KERJA

Pengujian air serapan

Campuran komonomer (A-L-Pro(OMe) / HPMA, 80/20, % vol.) dengan volume total 2 ml dalam gelas ampul (panjang = 6 cm, diameter = 3 cm) dialirkan gas N₂ selama ± 5 menit untuk menghilangkan gas O₂ terlarut. Selanjutnya di iradiasi dengan sinar γ pada dosis 30 kGy (laju dosis = 10 kGy/j). Cuplikan hasil iradiasi dicuci dengan etanol untuk menghilangkan monomer sisa, lalu dicuci dengan air destilasi dan dikeringkan pada suhu kamar. Kemudian direndam dalam air pada rentang suhu 6-80°C, dan pada setiap pengujian suhu dalam selang waktu 24 jam ditentukan air serapannya. Air serapan didefinisikan dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Air serapan \%} = \frac{W_0 - W_1}{W_1} \times 100\% \quad (1)$$

W₀ = berat cuplikan basah, W₁ = berat cuplikan kering.

Pengekangan dan pelepasan hormon testosteron pada matriks hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20, % vol.)

Cuplikan kering dalam bentuk silindris (panjang = 30 mm, diameter = 10 mm) hasil iradiasi, direndam dalam larutan testosteron 1, 5, dan 15% pada suhu 6°C selama ± 5 hari. Selanjutnya cuplikan dicuci dengan air destilasi selama ± 2 hari untuk menghilangkan metanol yang tersisa. Kemudian cuplikan dikeringkan dalam freeze-dryer pada suhu -20°C selama 24 jam. Pengujian in vitro dilakukan dengan cara merendam matriks hidrogel dalam pelarut air (40 ml) pada rentang 6-80°C. Pada selang waktu tertentu, konsentrasi testosteron yang lepas dari matriks diukur menggunakan spektrofotometer buatan Shimadzu pada λ = 249 nm. Air yang dipakai untuk pengujian selalu ditukar untuk setiap waktu pengukuran testosteron yang lepas dari matriks hidrogel.

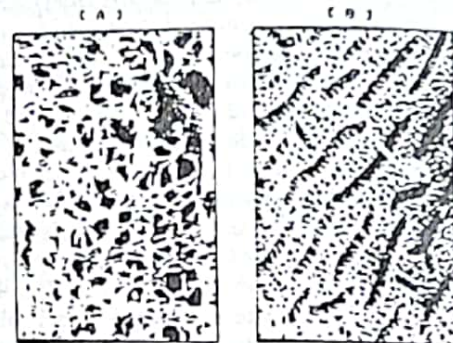
Pengamatan struktur pori hidrogel

Untuk pengamatan struktur pori hidrogel digunakan alat Scanning Electron Microscope, Model JSM-U3, buatan Japan Electron Optics Laboratory Co. Ltd.

HASIL DAN PEMBAHASAN

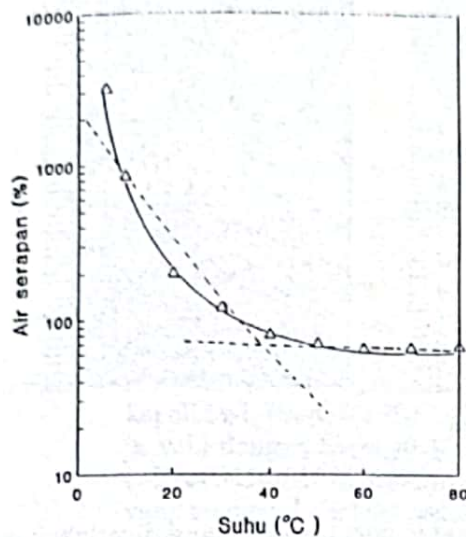
Sifat swelling (pengembangan)

Suatu perubahan yang mencolok terjadi pada hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20, % vol.) selama proses pemanasan yaitu terjadinya perubahan pada struktur dan ukuran pori-pori dari hidrogel, ukuran pori-pori yang pada mulanya relatif besar pada suhu 6°C (Gambar 1A) menjadi relatif kecil pada suhu 50°C (Gambar 1B).



Gambar 1. Mikrophotograf SEM hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20, % vol.) yang ditentukan setelah perendaman hidrogel dalam air destilasi selama 24 jam pada suhu 6°C (A) dan 50°C (B).

Perubahan ini diukur secara kuantitatif dengan menguji air serapannya sebagai fungsi suhu yang disajikan pada Gambar 2. Terlihat bahwa dengan meningkatnya suhu pemanasan dari 6°C sampai 40°C, terjadi penurunan air serapan sebesar ± 3000%, dan pemanasan pada suhu >40°C perubahan air serapan relatif konstan. Dari Gambar 2 ini dapat diuraikan terjadinya dua bentuk keadaan dari hidrogel, yaitu pada suhu <40°C dengan nilai air serapan yang berkisar antara 100- 3100% dan pada suhu >40°C dengan nilai air serapan ± 100%. Suhu 40°C merupakan titik kritis perubahan nilai air serapan. Pada suhu <40°C kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA) berbentuk gel dan pada suhu >40°C berbentuk polimer yang kaku dan mempunyai sifat yang reversibel pada pengujian *swelling-deswelling* dalam daerah selang perubahan suhu 6 - 50°C [8]. Suhu 40°C yang merupakan titik kritis perubahan bentuk dari gel ke bentuk polimer yang kaku disebut sebagai *A lower critical solution temperature* atau LCST [7].



Gambar 2. Pengaruh pemanasan pada air serapan hidrogel kopoli (A-L-Pro (Ome), 80/20, % vol). Air serapan hidrogel ditentukan setelah perendaman dalam air destilasi selama 24 jam pada setiap suhu pengukuran

Penampilan perubahan ukuran hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20, % vol.) setelah *swelling* dalam air destilasi pada suhu 6°C, kemudian diamati pada suhu 20°C sebagai fungsi waktu, disajikan pada Gambar 3. Terlihat bahwa hidrogel dengan diameter 1,5 cm pada suhu 6°C berubah menjadi 1 cm setelah pengujian pada suhu 20°C selama 300 menit. Hal ini menunjukkan terjadi pengecilan ukuran diameter dari hidrogel disebabkan keluarnya air serapan dari hidrogel dengan menciutnya (shrink) hidrogel.

Pengekangan dan pelepasan hormon testosteron *in vitro* pada matriks hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20, % vol.)

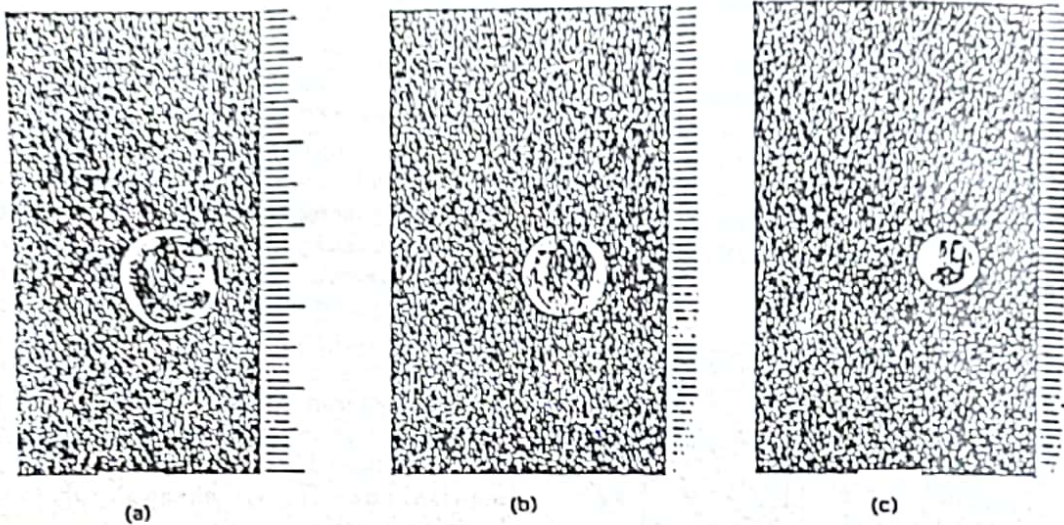
Untuk menguji kemampuan hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20, % vol.) dalam mengekang dan melepaskan hormon digunakan senyawa testosteron sebagai senyawa model. Jumlah testosteron yang diserap persatuan volume hidrogel kopoli (A-L-Pro (OMe)/HPMA, 80/20, % vol.) dengan beragam konsentrasi testosteron setelah proses pengeringan, di-

sajikan pada Tabel 1. Terlihat bahwa dengan meningkatnya konsentrasi testosteron dengan ukuran matriks yang konstan, jumlah testosteron yang diserap hidrogel menaik. Hal ini menunjukkan bahwa matriks hidrogel dalam kondisi *swelling* dapat menyerap testosteron.

Perbandingan air serapan hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20, % vol) dengan hidrogel yang mengandung testosteron 0,865 mg/cm³ yang diukur pada suhu 30°C sebagai fungsi waktu dan setelah perendaman kedua hidrogel ini pada suhu 6°C selama 24 jam disajikan pada Gambar 4. Terlihat pada waktu perendaman >8 jam, air serapan dari hidrogel yang mengandung testosteron relatif lebih kecil dibandingkan hidrogel yang tidak dimuati hormon. Hal ini mungkin disebabkan adanya testosteron pada matriks hidrogel menyebabkan air sukar masuk ke dalam matriks.

Pengaruh suhu pada jumlah testosteron yang lepas dari matriks hidrogel yang mengandung testosteron 0,865; 6,205; dan 20,705 gr/cm³ dalam matriks hidrogel dengan rentang waktu pengujian 0,5-7 jam disajikan pada Gambar 5, 6 dan 7. Terlihat bahwa dengan meningkatnya suhu, jumlah testosteron yang lepas dari matriks hidrogel yang mengandung testosteron 0,865 gr/cm³ menurun mencapai harga minimum pada suhu 40°C (suhu LCST). Untuk matriks hidrogel yang mengandung testosteron 6,205 dan 20,705 gr/cm³ terjadi penurunan jumlah testosteron hingga nilai minimum pada suhu 20°C (LCST) pada setiap waktu pengujian. Hal ini mungkin disebabkan dengan meningkatnya jumlah testosteron yang diserap pada hidrogel serta meningkatnya suhu yang menyebabkan hidrogel menciut (shrink) sehingga mengakibatkan daya difusi testosteron untuk keluar dari matriks hidrogel berkurang [10].

Hubungan jumlah testosteron yang lepas dari matriks hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20, % vol.) yang mengandung testosteron 0,865; 6,205; dan 20,706 mg/cm³ dengan akar waktu yang ditentukan pada suhu kritis bawah (< LCST), dan suhu kritis atas (>LCST) disajikan pada Gambar 8,9 dan 10. Terlihat bahwa kurva ini menunjukkan sifat fungsi linier, baik pada suhu kritis bawah (LCST) maupun suhu kritis atas (LCST), kecuali untuk pengujian pada waktu relatif dari matriks hidrogel yang mengandung testosteron 0,865 mg/cm³ (Gambar 8). Hal ini menunjukkan bahwa lepasnya testosteron dari matriks polimer adalah melalui proses difusi [9].



Gambar 3. Penampilan hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20, % vol.) yang diperlakukan pada periode waktu (a) 0 menit, (b) 30 menit, dan (c) 300 menit pada suhu 20°C setelah perendaman hidrogel pada suhu 6°C

Tabel 1. Jumlah testosteron yang diserap matriks kopoli (A-L-ProOMe/HPMA, 80/20% vol.) setelah perendaman dalam larutan testosteron dengan konsentrasi 1; 5; dan 15% ± 5 hari

Testosteron (%)	VM (cm ³)	BMK (g)	BMKT (g)	T/VM (mg/cm ³)
1	18,84	0,2632	0,2795	0,865
5	18,84	0,2664	0,3833	6,205
15	18,84	0,2674	0,6575	20,706

Keterangan :

VM = Volume matriks dalam bentuk silindris (panjang = 3 cm, diameter = 1 cm)

BMK = Berat matriks setelah pengeringan

BMKT = Berat matriks kering + testosteron yang diserap setelah pengeringan

T = Jumlah testosteron yang diserap pada matriks

T/VM = Jumlah testosteron yang diserap pada matriks per satuan volume matriks

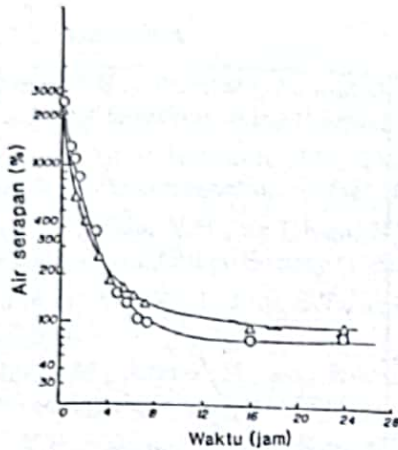
KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat ditarik beberapa kesimpulan antara lain :

1. Hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20, % vol.) peka pada perubahan suhu pada rentang suhu 6-40°C.
2. Hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20, % vol.) dapat digunakan untuk melepaskan dan melepaskan testosteron.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan pada JAERI yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian, dan ucapan yang sama disampaikan pada IAEA yang telah memberikan bantuan finansial untuk melakukan penelitian ini.

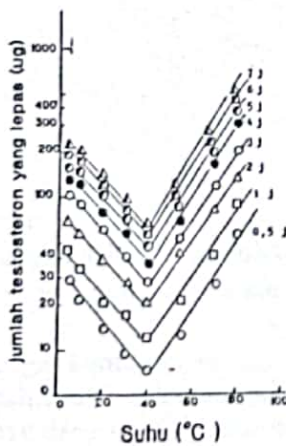


Gambar 4. Perbandingan air serapan hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/ 20 % vol.) dengan hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20% vol.) yang mengandung testosteron $0,865 \text{ mg/cm}^3$, pada suhu pemanasan dari $6-30^\circ\text{C}$ sebagai fungsi waktu

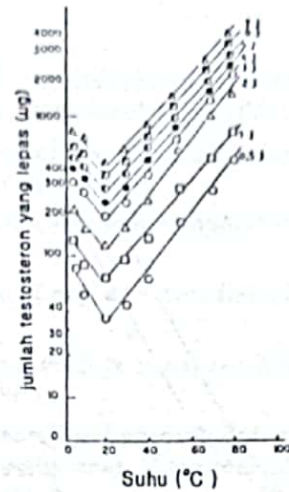
Keterangan:

[] hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/ 20% vol.)

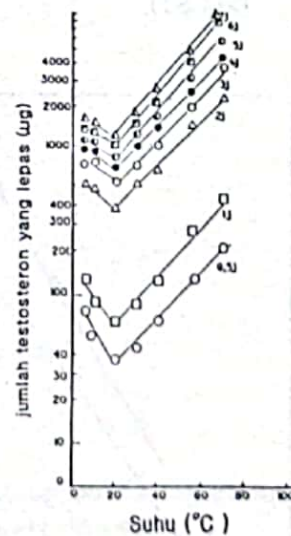
[] hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/ 20% vol.) + testosteron



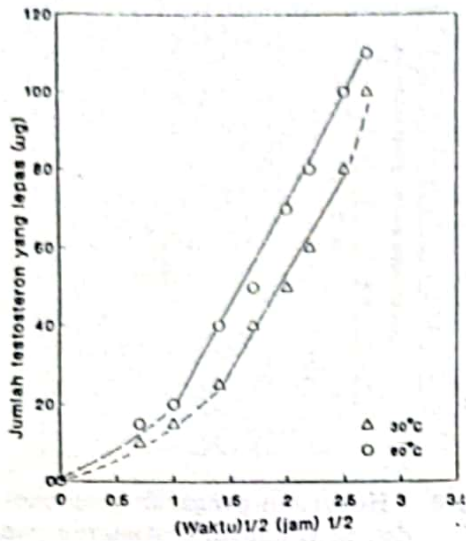
Gambar 5. Hubungan pengaruh pemanasan dengan jumlah testosteron yang lepas dari kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/ 20% vol.) yang mengandung testosteron $0,865 \text{ g/cm}^3$ sebagai fungsi lama perendaman. Jumlah testosteron yang lepas dalam air destilasi diukur menggunakan spektrofotometer



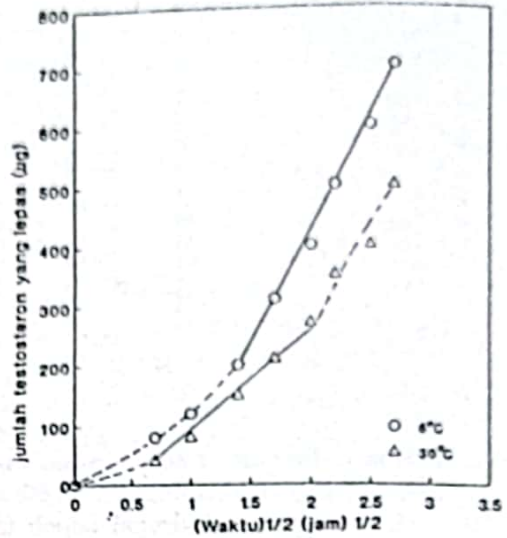
Gambar 6. Hubungan pengaruh pemanasan dengan jumlah testosteron yang lepas dari kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/ 20% vol.) yang mengandung testosteron $6,205 \text{ gr/cm}^3$ sebagai fungsi lama perendaman. Jumlah testosteron yang lepas dalam air destilasi diukur menggunakan spektrofotometer



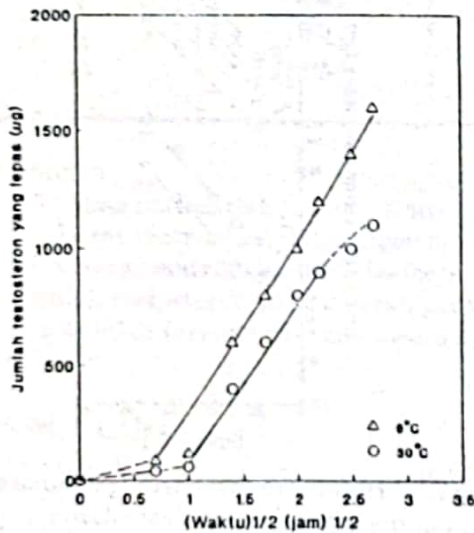
Gambar 7. Hubungan pengaruh pemanasan dengan jumlah testosteron yang lepas dari kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/ 20% vol.) yang mengandung testosteron $20,706 \text{ g/cm}^3$ sebagai fungsi lama perendaman. Jumlah testosteron yang lepas dalam air destilasi diukur menggunakan spektrofotometer pada $\lambda = 249 \text{ nm}$



Gambar 8. Kinetika orde pertama testosteron yang lepas dari hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20% vol.) yang mengandung testosteron 0,865 mg/cm³ diukur pada suhu 30°C (<LCST), dan suhu 60°C (>LCST)



Gambar 9. Kinetika orde pertama testosteron yang lepas dari hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20% vol.) yang mengandung testosteron 6,206 mg/cm³ diukur pada suhu 30°C (<LCST), dan suhu 60°C (>LCST)



Gambar 10. Kinetika orde pertama testosteron yang lepas dari hidrogel kopoli (A-L-Pro(OMe)/HPMA, 80/20% vol.) yang mengandung testosteron 20,706 mg/cm³ diukur pada suhu 30°C (<LCST), dan suhu 60°C (>LCST)

DAFTAR PUSTAKA

1. Hoffman, A.S., Afrassiabi, A., and Dong, L.C., Delivery and removal of substances to and from surrounding solutions using thermally reversible hydrogels, *Macromol.* (1986) 65.
2. Dong, L.C., and Hoffman, A.S., Thermally reversible hydrogels: III. Immobilization of enzymes for feedback reaction control, *J. Controlled Release* 4 (1986) 223.
3. Okano, T., Bae, Y.H., and Kim, S.W., Insulin permeation through temperature sensitive hydrogels, *J. Am. Chem. Society* (1986) 14.
4. Tanaka, T., Nishio, I., Sun, S.T., and Nishio, U., Collapse of gels in active field, *Science* 218 (1982) 467.
5. Yoshida, M., Asano, M., and Kumakura, M., A new temperature sensitive hydrogel with amino acid group as side chain of polymer. *Eur. Poly. J.* (1989).
6. Bae, Y.H., Okano, T., and Kim, S.W., A new thermo-sensitive hydrogel; Interpenetrating polymer network from N-acryloylpyrrolidine and poly(oxyethylene), *Macromol. Chem. Rapid Commun.* 9 (1988) 185.
7. Hoffman, A.S., Afrasiabel, A., and Dong, L.C., Thermally reversible hydrogels ; II. delivery and selective removal of substances from aqueous solution, *J. Controlled Release* 4 (1986) 213.
8. Erizal, Yoshida, M., and Kumakura, M., Temperature sensitive hydrogel of amino acid derivatives, *Risalah pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi dalam bidang industri dan hidrologi, BATAN* (1991) 565.
9. Chien, Y.W., and Lau, E.P.K., Controlled drug release from polymeric delivery device IV; In vitro-in vivo correlation of subcutaneous release of norgestomet from hydrophilic implants, *J. of Pharm. Sciences* 65 (1976) 489.
10. Bae, Y.H., Okano, T., Hsu, R., and Kim, S.W., Thermo- sensitive polymers as switches for drug release, *Macromol. Chem., Rapid Commun.* 8 (1987) 481.

DISKUSI

Nurhayati:

1. Mohon dijelaskan kegunaan hidrogel dalam kehidupan sehari-hari.
2. Apakah penggunaannya ada kaitannya dengan RIA?

Erizal:

1. a. Sebagai kontak busa.
b. Pembalut luka bakar (sedang dikembangkan di PAIR). Dapat digunakan mengekang zat-zat bioaktif dengan pelepasan yang terkontrol, misalnya enzim, gel atau obat.
2. Dapat dikaitkan dengan RIA, yaitu pengujian sifat matriks hidrogel yang telah mengandung zat bioaktif, misalnya obat anti kanker, hormon dan sebagainya, secara in- vivo.

Ign. Djoko Sardjono:

1. Prosentase serapan (atau parameter yang lain) itu sepengetahuan saya maksimum dinyatakan dalam 100%, tetapi di makalah Saudara lebih dari 100%. Mohon penjelasan.
2. Dari penyajian Saudara menjelaskan bahwa pada suhu lebih rendah (6°C), hidrogel mempunyai porositas yang lebih tinggi /rendah daripada hidrogel pada suhu lebih tinggi (60°C), bagaimana mekanisme mikroskopisnya?

Erizal:

1. Hidrogel-hidrogel pada umumnya mempunyai air serapan yang relatif besar dibandingkan berat keringnya. Dasar perhitungan air serapannya adalah air serapan = $\frac{\text{Berat basah} - \text{berat kering}}{\text{berat kering}} \times 100\%$. Berat basah selalu lebih besar dari berat kering hidrogel.
2. Pada suhu rendah 6°C, terjadi air serapan yang relatif besar ($\pm 3200\%$) yang juga menunjukkan jumlah/ukuran pori-pori hidrogel yang besar. Sedang dengan menaiknyasuhu terjadi penciutan ukuran pori.