

Pengembangan Komposit Nanofiber PVA/Hydroxyapatite sebagai Scaffolds pada Rekayasa Jaringan Tulang

Hartatiek, Yudyanto, Umie Lestari, Universitas Negeri Malang ,Malang, Indonesia, hartatiek.fmipa@um.ac.id.

Abstrak

Komposit nanofiber Polyvinyl alcohol (PVA)/Hydroxyapatite telah dibuat dengan teknik elektrospinning. Hydroxyapatite (HAp) disintesis menggunakan *calcite* alam sebagai material awal dengan ukuran nano-meter digunakan sebagai filler sedangkan PVA sebagai matrik. Komposit nanofiber PVA/HAp dapat digunakan sebagai *scaffolds* pada rekayasa jaringan tulang karena secara struktural dapat meniru extracellular matrix (ECM) tulang alami. Persyaratan yang harus dipenuhi sebagai *scaffolds* untuk rekayasa jaringan tulang antara lain: diameter serat, porositas, sifat mekanik, biodegradasi dan bioaktivitas. Ukuran diameter serat matrik PVA dipengaruhi oleh rasio konsentrasi PVA dan air, flowrate larutan, dan tegangan yang digunakan saat elektrospinning. Konsentrasi HAp sebagai filler juga mempengaruhi diameter, porositas, sifat mekanik dan laju degradasi komposit nanofiber PVA/HAp.

Kata Kunci: Komposit PVA/HAp, nanofiber, scaffolds, reayasa jaringan tulang

1. Pendahuluan

Material komposit nanofiber telah dikembangkan untuk berbagai aplikasi biomedis[1,2] , termasuk rekayasa jaringan tulang. Dalam rekayasa jaringan tulang digunakan scaffolds untuk mendukung proliferasi regenerasi sel. Scaffolds dalam bentuk nanofiber sangat menarik perhatian karena kemiripannya dengan arsitektur matrik extracellular tulang alami dalam hal struktur dan sifat mekaniknya. Hal ini dikarenakan tulang dibentuk oleh material komposit terdiri atas kolagen yang paling utama membentuk bagian organik tulang dan kristal kalsium fosfat (apatit) ada dalam matrik kolagen yang membentuk bagian anorganik tulang [3] . Kehilangan jaringan tulang dapat terjadi sebagai akibat trauma kecelakaan, kanker atau cacat tulang seperti osteoporosis, osteogenesis tak sempurna dan *pseudarthrosis* bawaan [4-6]. *Allograft* dan *autograft* dapat digunakan untuk penggantian kehilangan jaringan tulang. Akan tetapi, pilihan ini memiliki kelemahan utama seperti kurangnya donor dan penolakan immunogenic cangkok oleh tubuh induk [7,8]. Untuk mengatasi kelemahan ini, rekayasa jaringan tulang saat ini digunakan untuk treatment cacat/kehilangan tulang.

Gagasan menciptakan jaringan yang meniru tulang dalam hal struktur dan fungsi menjadi tantangan sampai saat ini. Cangkok tulang atau scaffolds sebaiknya meniru struktur dan sifat ECM alami dan memberikan semua lingkungan yang diperlukan yang ditemukan dalam tulang alami. *Scaffolds* dimaksudkan untuk menciptakan lingkungan mikro untuk

adesi, proliferasi dan diferensiasi sel [9,10]. *Scaffolds* memainkan peran penting dalam rekayasa jaringan tulang karena memberikan lingkungan 3-Dimensi untuk menabur sel hingga kerusakan tulang terisi dan memberikan dukungan mekanik selama perbaikan tulang berlangsung. Dalam rekayasa jaringan tulang, sifat fisik dan mekanik harus dipertimbangkan meliputi: biokompatibilitas, porositas, ukuran pori, topografi permukaan dan karakteristik kimia permukaan, osteokonduktivitas, sifat mekanik yang sesuai dengan ECM alami dan bioresorbabilitas [10]. Karakteristik optimal *scaffolds* adalah kekuatan mekanik, laju degradasi, porositas, dan mikrostruktur sebagaimana bentuk dan ukuran *scaffolds* polimerik [11],13].

Polyvinyl alcohol adalah polimer sintesis yang larut dalam air, diperoleh melalui polimerisasi monomer vinyl acetate, dengan hidrolisis kelompok acetate berubah menjadi kelompok hydroxyl. PVA biasa digunakan untuk mengontrol sistem pelepasan obat, dan sifat biokompatibelnya yang alami menjadikan PVA digunakan dalam berbagai aplikasi biomedis [13]. Struktur kimia PVA relatif sederhana terdiri atas *backbone* utama dari atom-atom carbon dan *pendant* dari kelompok hydroxyl. Ikatan hidrogen pada intra dan intermolekuler mengakibatkan dissolusi PVA terjadi pada temperatur tinggi (sekitar 80 °C) dan dengan pengadukan yang terus-menerus. PVA dilaporkan memiliki sifat mekanik dan sifat kimia yang baik [14].

Selain bahan polimer, senyawa bioaktif sering digunakan dalam rekayasa jaringan tulang untuk memfasilitasi interaksi antara *scaffolds* dan sel, mendukung adesi, proliferasi dan adesi sel [15]. *Hydroxyapatite* (HAp) merupakan komponen anorganik utama dalam tulang, menjadikan HAp sangat menjanjikan sebagai senyawa bioaktif yang memiliki kemampuan meniru fungsi tulang alami yang akhirnya dapat mempromosikan osteokonduktivitas [16]. HAp sangat intens dikaji disebabkan sifat biokompatibel dan bioaktif yang sangat baik [17]. Saat ini HAp telah diaplikasikan dalam bidang biomedis dan bidang rekayasa jaringan seperti implan tulang, dan matrik untuk kontrol pelepasan obat. Secara klinik HAp digunakan dalam bentuk powder (bubuk), granular, coating, blok dalam bentuk padat dan blok berpori. Berbagai metode telah digunakan untuk mensintesis bubuk HAp sintesis, antara lain presipitasi kimia basah, proses sol-gel, reaksi keadaan padat, deposisi uap kimia, hidrotermal [19-23]. Diantara metode ini, presipitasi basah yang umum digunakan karena kesederhanaannya dan biayanya murah yang sesuai untuk produk industri. Oleh karena itu pada kajian ini sintesis HAp dilakukan dengan metode presipitasi.

Faktor penting lain dalam rekayasa jaringan adalah metode fabrikasi *scaffolds*. Kajian ini lebih memfokuskan pada metode elektrospinning untuk mengembangkan *scaffolds* nanofiber yang ideal untuk kultur sel 3-Dimensi yang diinginkan dalam rekayasa jaringan [22]. Elektrospinning telah terbukti menjadi metode yang sangat efektif untuk produksi nanofiber. Sebagian besar aplikasi nanofiber sangat penting untuk mengontrol diameter fiber, arsitektur, morfologi permukaan serta penjajaran fiber. Untuk *scaffolds* nanofiber, material biodegradabel harus mendukung regenerasi jaringan tulang dan proses perbaikan sambil memberikan dukungan mekanik. Karakteristik optimal *scaffolds* adalah kekuatan, laju degradasi, porositas dan mikrostruktur serta bentuk dan ukuran *scaffolds* polimer. Proses degradasi dan laju degradasi polimer dipengaruhi oleh berat molekuler dan kiralinitas [23].

Teknik elektrospinning merupakan metode yang sederhana untuk menghasilkan serat halus yang homogen dengan diameter dalam range submikron hingga nanometer. Teknik Electrospinning menggunakan gaya elektrostatis, medan listrik diaplikasikan antara larutan polimer dan kolektor. Aplikasi medan listrik membangkitkan gaya elektrostatis pada permukaan polimer, dengan bantuan gaya ini material polimer dapat mengatasi tegangan permukaan dan dapat berjalan menuju kolektor. Ketika larutan polimer digunakan, pelarut secara berangsur-angsur menguap dan serat terbentuk selama pergerakan ini. Pada saat yang sama, diameter serat berangsur-angsur menurun sebagai hasil pergerakan cepat ini. Akhirnya serat kontinyu terkumpul secara khas dalam bentuk nonwoven [24]. Serat yang dihasilkan dari teknik elektrospinning memiliki karakteristik rasio luas permukaan terhadap volume tinggi, porositas tinggi dan konektivitas antar pori yang sesuai untuk rekayasa jaringan [25].

Salah satu hal utama dalam rekayasa jaringan tulang adalah meniru ECM tulang alami yakni *scaffolds* dalam bentuk fiber. Teknik electrospinning telah terbukti efektif membentuk fiber dengan diameter dalam skala nanometer dengan area luas permukaan yang sangat tinggi, hingga satu sampai dua orde lebih besar daripada mikrofiber yang dihasilkan dari metode spinning tradisional. Oleh karena itu elektrospun nanofiber sangat bermanfaat untuk dikembangkan pada berbagai produk yang fungsional yang bergantung pada luas permukaan. Salah satu aplikasi yang sangat menjanjikan adalah pengembangan *scaffolds* seluler nanofiber untuk rekayasa jaringan tulang [26].

Santos, dkk. (2017) [27] memfabrikasi komposit PVA/HAp *nanofiber* dengan perkusor tulang paha babi. *Fiber* dipreparasi dengan elektrospinning menggunakan larutan polimer polivinyl alcohol dengan berat molekul (Mw) antara 77.000-79000 g/mol dan komposisi PVA :10 wt % dan 15 wt %. Diameter fiber PVA dan komposit PVA/HAp tidak berubah secara signifikan. Penggunaan PVA 10 wt % menghasilkan fiber dalam bentuk silindris dan sedikit HAp yang teramati didalam fiber dan muncul manik-manik. Kenaikkan PVA 15 wt % menghasilkan suspensi dan lebih banyak HAp yang masuk didalam *fiber*. Penelitian menemukan bahwa ada pengaruh konsentrasi PVA pada morfologi dan jumlah partikel HAp yang terdispersi dalam komposit PVA/HAp *fiber*.

Penelitian yang dilakukan Enayatia, dkk. (2018) memfabrikasi *scaffolds* berbasis PVA dengan berat molekul 124.000 g/mol dengan filler HAp dan nano selulosa (CNF). Penambahan filler HAp dan NCF mereduksi diameter fiber dan sedikit menggeser tensile stress. Semua *scaffolds* memiliki porositas lebih besar dari 70% dan masih muncul manik-manik. Nano filler memiliki pengaruh positif pada sifat hidrofilik *scaffolds* [28].

Pada penelitian yang dilakukan sebelumnya masih ada masalah pada matrik PVA yaitu muncul manik-manik. Permasalahan ini muncul disebabkan ketidaksesuaian berat molekul polimer dengan tegangan yang diberikan. Polimer dengan berat molekul rendah cenderung menciptakan manik-manik. Untuk mengatasi masalah ini pemilihan berat molekul PVA menjadi sangat penting. Pada penelitian ini unsur kebaruannya adalah penggunaan PVA dengan berat molekul medium untuk meminimalkan munculnya manik-manik pada matrik PVA. Selain itu HAp disintesis menggunakan bahan alam *calcite* Druju bukan dari HAp biologi seperti tulang babi, tulang sapi dan bahan biologi yang lain yang terbatas keberadaannya. Memanfaatkan deposit alam yang melimpah merupakan salah satu

alasan pembuatan HAp dengan harga yang murah [29]. Pada book chapter ini dipaparkan teori tentang PVA dan komposit PVA/HAp nanofiber. Pembuatan matrik PVA dan komposit PVA/HAp nanofiber serta hasil-hasil karakteristiknya yang meliputi diameter dan porositas nanofiber.

2. Karakteristik PVA dan Komposit PVA/HAp Nanofiber

Polyvinyl alcohol adalah polimer sintetis yang memiliki karakteristik biokompatibel, sifat fisik yang sangat baik, toksisitas rendah, sangat hidropilik dan pembentuk fiber yang sangat baik. PVA dihasilkan melalui hidrolisis sebagian atau seluruhnya dari polyvinyl asetat untuk menghilangkan grup asetat. Jumlah hidroksilasi menentukan karakteristik fisik, sifat mekanik dan sifat kimia PVA, dan menghasilkan PVA yang mudah larut dalam air tetapi bersifat melawan pelarut organik. Derajat hidroksilasi dan polimerisasi yang lebih tinggi, mengakibatkan kelarutannya dalam air menurun dan lebih sulit untuk mengkristal [30].

Nanofiber adalah klas baru material dengan karakteristik khusus yang menjadikannya sesuai untuk aplikasi sebagai filtrasi, kapasitor, transistor, sistem *drug delivery*, separator baterai, penyimpanan energi, *fuel cell* dan teknologi informasi. Elektrospun PVA nanofiber dapat difabrikasi dengan teknik elektrospinning. PVA dilarutkan dalam DMF dihasilkan elektrospun PVA nanofiber yang sejajar. Nanofiber diperoleh menggunakan konsentrasi larutan 25 wt%, tegangan 10 kV, jarak spinning 10 cm dengan laju aliran berbeda dari 0,1 ; 0,2 dan 0,3 ml/jam. Peningkatan laju aliran mengakibatkan peningkatan diameter rata-rata fiber. Pada laju aliran 0,1 ml/jam menunjukkan penesejajaran paling baik dan diameter rata-rata fiber lebih kecil dibawah 100 nm [31].

Hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) memiliki biokompatibilitas yang sangat baik dan sifat bioaktif terhadap sel-sel tulang dan jaringan, hal ini disebabkan kemiripannya dengan struktur jaringan tubuh. Saat ini HAp merupakan salah satu calcium phosphat yang secara luas telah digunakan secara klinis dalam bentuk powder, granular, padat dan berpori. HAp dalam tulang berbentuk kristal seperti-needle dengan lebar 5-20 nm dan panjang 60 nm, kurang terkrystalisasi dan non-stokiometrik. Sifat HAp seperti ukuran grain permukaan, ukuran pori, wettability dapat mengontrol interaksi protein [32].

Saat ini penelitian diarahkan untuk memfabrikasi elektrospun sintetis dari polimer alami atau polimer sintetis dengan menambahkan nanopartikel HAp untuk aplikasi regenerasi jaringan-keras seperti polyvinyl alcohol (PVA), poly (lactic acid) (PLA), polycaprolactone (PCL) dan polyvinylpyrrolidon (PVP). PVA/HAp nanofiber merupakan elektrospun nanokomposit meniru ECM tulang alami yang sangat anisotropik 3-D secara mikroskopik sama dengan substruktur tulang [33].

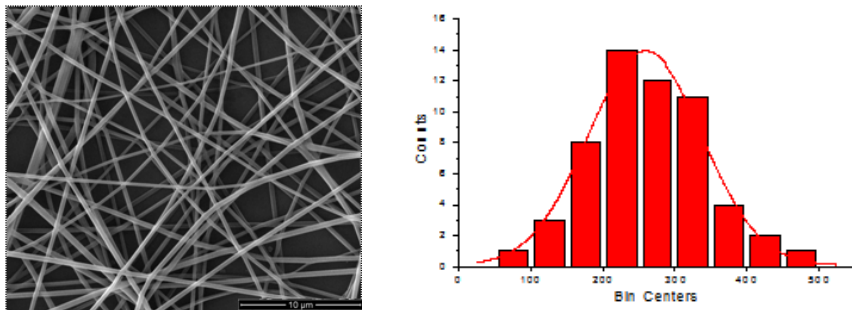
3. Pembuatan Matrik PVA dan Komposit nanofiber PVA/HAp

PVA powder ($M_w = 145.000$ g/mo. Merk Schuchardt OGH, Jerman) dengan derajat hidrolisis $\geq 98\%$ digunakan sebagai larutan dengan metode sonokimia. PVA sebanyak 0,65 g dilarutkan dalam 5 ml aquades pada konsentrasi antara 5-13 %. Memanaskan air 5 ml hingga mencapai suhu 120°C . Larutan PVA dimasukkan dalam air panas sambil distirring pada 700 rpm sampai larutan homogen dan PVA terlarut selama sekitar 2 jam. Selanjutnya larutan disonikasi selama 2 jam. Untuk membentuk fiber, larutan PVA di electrospinning pada tegangan 14 kV dengan flowrate 100 ml/menit selama 30 menit. Selanjutnya sampel diuji FTIR dan SEM.

Sintesis elektrospun PVA/HAp dilakukan dengan melarutkan PVA dengan berat molekul 145.000 gr/mol sebanyak 0,65 gram kedalam 4 ml aquades. Sebelumnya memanaskan aquades sebanyak 4 ml dengan suhu hotplate 120°C dan kecepatan stirrer 700 rpm, memanaskan larutan PVA hingga homogen dalam waktu sekitar 2 jam. HAp sebanyak 0,076 g kedalam 1 ml aquades dan distirring dengan kecepatan 700 rpm selama 1jam. Larutan HAp ditetaskan kedalam larutan PVA sambil distirring dengan kecepatan 700 rpm dan dipanaskan pada suhu 120°C selama 2 jam hingga homogen dan selanjutnya disonikasi selama 2 jam. Larutan didiamkan hingga mencapai suhu ruang dan dielectrospinning pada tegangan 14 kV, flowrate $100\ \mu\text{L}/\text{menit}$, selanjutnya sampel dikarakterisasi FTIR dan SEM-EDX.

4. Karakteristik Matrik Nanofiber PVA

Hasil SEM nanofiber PVA dan analisis distribusi diameter nanofiber dengan program ImageJ disajikan pada Gambar 1



Gambar 1 (a) Hasil SEM matrik fiber PVA dan (b) Distribusi diameter nanofiber

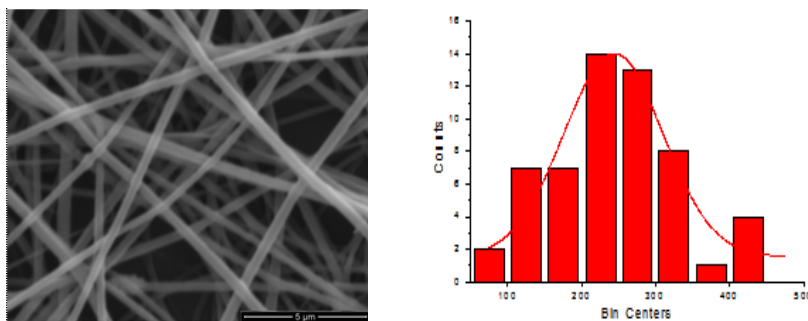
Tampak dari Gambar 1 bahwa distribusi diameter fiber ada pada range 54-498 nm dengan diameter rerata 264 nm. Sementara kriteria untuk ukuran nanofiber ada pada range 50 nm-400 nm, oleh karena matrik PVA dikatakan sebagai nanofiber.

Distribusi fiber yang tidak merata berkaitan dengan viskositas larutan, laju elektrospinning yang terlalu besar menyebabkan larutan yang ditarik oleh tegangan tidak

seragam. Terdapat hubungan yang signifikan antara diameter fiber dan konsentrasi larutan dalam proses electrospinning [34]. Peningkatan konsentrasi PVA cenderung menurunkan diameter fiber dan meningkatkan luas permukaan. Konsentrasi larutan juga mempengaruhi bentuk dan ukuran PVA [35].

5. Karakteristik Komposit *Nanofiber* PVA/HAp

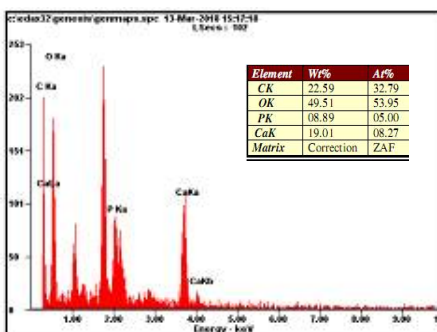
Hasil SEM komposit fiber PVA/HAp komposisi (85/15) dan hasil analisis distribusi diameter dengan program ImageJ disajikan pada Gambar 2. Distribusi diameter fiber tidak merata dengan range 30-390 nm dan diameter rerata 193 nm.



Gambar 2 (a) Hasil SEM Komposit PVA/HAp (85/15) dan (b) Distribusi Diameter Fiber

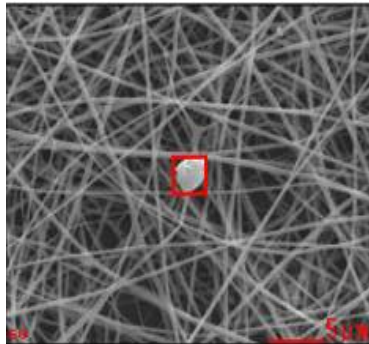
Tampak dari Gambar 2 (a) bahwa distribusi fiber tidak seragam. Ketidakteraturan antar fiber berkaitan dengan nanopartikel HAp yang masuk sebagai komposit tidak sepenuhnya homogen, menyebabkan HAp terdistribusi tidak merata dan mengalami aglomerasi di dalam serat PVA. Ukuran HAp yang kecil (4,9 nm) sangat mempengaruhi aglomerasi yang terjadi [36]

Untuk mengetahui persentase HA yang masuk didalam matrik PVA diuji dengan SEM-EDX. Hasil uji SEM-EDX disajikan pada Gambar 3.



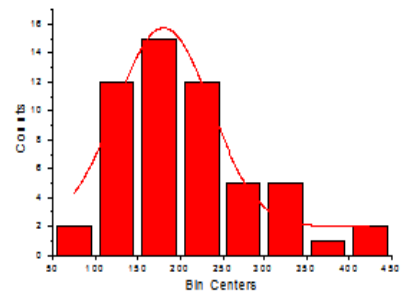
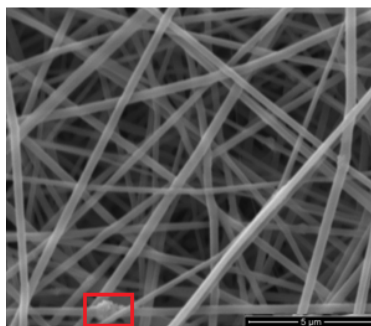
Gambar 3 Hasil Uji SEM EDX komposit PVA/HAp 85/15

Dari Hasil SEM EDX menunjukkan bahwa HAp yang masuk kedalam matrik PVA memiliki nilai rasio Ca/P sebesar 1.65, nilai ini sangat mendekati dengan nilai yang harus dipenuhi dalam tulang yaitu 1.67 [37]. Sedangkan dari jumlah komposisi total HAp yang masuk kedalam PVA mencapai 12,27 % dari komposisi HAp hitungan 15%. Nilai komposit yang berbeda ini menunjukkan bahwa HAp belum semuanya masuk di dalam fiber. Hal ini dikarenakan HAp mempunyai ukuran yang sangat kecil yaitu 4,9 nm, sehingga kemungkinan HAp teraglomerasi di dalam serat lebih besar, seperti ditunjukkan pada Gambar 4.



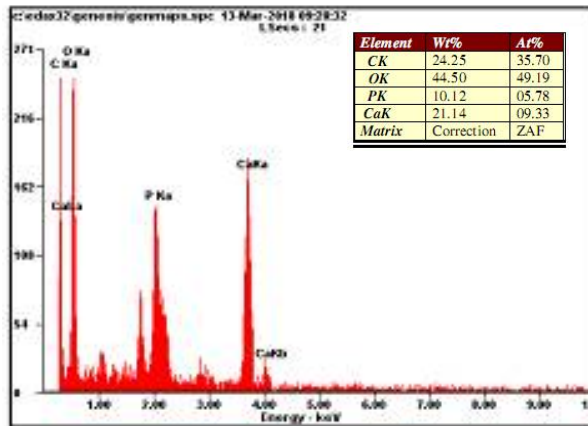
Gambar 4 Hasil SEM aglomerasi HAp

Hasil SEM komposit nanofiber PVA/HAp untuk konsentrasi 70/30 tidak mengalami perubahan yang signifikan. Distribusi serat yang terbentuk tidak seragam dalam range 58 - 500 nm, dengan diameter rerata 234 nm. Ketidakteraturan antar serat berkaitan dengan nanopartikel HAp yang masuk sebagai komposit tidak sepenuhnya homogen, menyebabkan HAp terdistribusi tidak merata dan mengalami aglomerasi di dalam serat PVA. Hal ini dibuktikan dengan adanya serat yang mengembang berwarna putih yang diberi tanda merah pada Gambar 5.



Gambar 5 Hasil Uji SEM Komposit PVA/HAp (70/30)

Gambar 6 hasil SEM EDAX menunjukkan bahwa HAp yang masuk kedalam matrik PVA memiliki nilai rasio Ca/P sebesar 1.61. Jumlah komposisi total HAp yang masuk kedalam fiber PVA mencapai 15,11 %.



Gambar 6 Hasil uji SEM-EDX Komposit PVA/HAp (70/30)

Hasil distribusi diameter, rerata diameter, rasio Ca/P dan porositas komposit PVA/HAp untuk berbagai komposisi disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Distribusi diameter diameter rerata, porositas komposit PVA/HAp

| No | Komposisi PVA/HAp | Range Distribusi Diameter Fiber (nm) | Diameter Rerata Fiber (nm) | Rasio Ca/P | Porositas (%) | Persentase HAp dalam Fiber (%) |
|----|-------------------|--------------------------------------|----------------------------|------------|---------------|--------------------------------|
| 1 | 100/0 | 54-498 | 264 | - | 74 | |
| 2 | 85/15 | 30-390 | 193 | 1,65 | 77 | 12,27 |
| 3 | 70/30 | 58-500 | 234 | 1,61 | 74 | 15,11 |

Diameter rerata 264 nm untuk PVA murni, dan menurun menjadi 193 nm untuk penambahan (HAp 15%) dan 234 nm (HAp 30%) peningkatan konsentrasi HAp meningkatkan diameter fiber sesuai hasil penelitian Hezma dkk. [38] Porositas matrik nanofiber PVA sebesar 74% sedangkan komposit nanofiber PVA/HAp memiliki nilai rerata 75,5 % terjadi peningkatan porositas dengan bertambahnya konsentrasi HAp. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan Enayati dkk., [28]. Konsentrasi PVA yang lebih besar dalam komposit PVA/HAp meningkatkan jumlah HAp yang terdistribusi didalam fiber. Untuk komposit PVA/HAp (85/15) sekitar 81,8% HAp yang terdistribusi dalam fiber

sedangkan untuk komposit PVA/HAp (70/30) jumlah HAp yang terdistribusi didalam serat menurun hanya sekitar 50,4 %, hasil ini sesuai yang dilakukan Santoz dkk., [27]

Rasio Ca/P komposit nanofiber PVA/HAp secara umum mendekati harga rasio Ca/P mendekati teoritik 1,67. Rasio Ca/P 1,67 memiliki kelarutan yang rendah dan sulit diabsorpsi oleh cairan tubuh (Dorozhkin, 2007). Rasio Ca/P yang rendah menyebabkan kelarutannya lebih besar dan mudah diabsorpsi tubuh.

7. Kesimpulan

Komposit nanofiber PVA/HAp telah berhasil disintesis menggunakan teknik electrospinning. Berdasarkan hasil kajian pada book chapter ini disimpulkan hal-hal sebagai berikut.

- Matrik PVA memiliki ukuran diameter fiber yang sesuai dalam skala nanometer pada konsentrasi larutan 13% dengan distribusi rata – rata 264 nm
- Penambahan konsentrasi HAp meningkatkan ukuran diameter fiber.
- Penambahan konsentrasi HAp meningkatkan porositas fiber.

Ucapan Terimakasih

Book Chapter ini didasarkan dari hasil penelitian yang didanai oleh Kemenristek Dikti Tahun 2018 Universitas Negeri Malang.

Referensi

- [1] Kai D, Shy S, Jun X. Biodegradable polymers for electrospinning: Towards biomedical applications. *Mater Sci Eng C* 2014;45:659–70. doi:10.1016/j.msec.2014.04.051.
- [2] Liu H, Shen Y, Shang P, Ma Y, Cheng X. *BSD Journal of Spinal Disorders and Techniques Publish Ahead of Print* Asymmetric facet joint osteoarthritis and its relationships to facet orientation , facet tropism and ligamentum flavum thickening Copyright © Lippincott Williams & Wilkins . Unauthorize n.d. doi:10.1097/BSD.0b013e31827ad875.
- [3] Saravanan S, Leena RS, Selvamurugan N. Chitosan based biocomposite scaffolds for bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol* 2016;93:1354–65. doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.01.112.
- [4] Soundarya SP, Sanjay V, Menon AH, Dhivya S, Selvamurugan N. Effects of Flavonoids Incorporated Biological Macromolecules Based Scaffolds in Bone Tissue Engineering. *Int J Biol Macromol* 2017. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.09.014.
- [5] Jimi E, Hirata S, Osawa K, Terashita M, Kitamura C, Fukushima H. The Current and Future Therapies of Bone Regeneration to Repair Bone Defects 2012;2012:1–8. doi:10.1155/2012/148261.
- [6] Hsieh J, Shen P, Wu P, Jou I, Wu C, Shiau A. Knockdown of toll-like receptor 4 signaling pathways ameliorate bone graft rejection in a mouse model of allograft transplantation. *Nat Publ Gr* 2017:1–9. doi:10.1038/srep46050.
- [7] Chen J, Zhang D, Zhang T, Chen C, Song Y, Liu S, et al. *AC. J Surg Res* 2017.

- doi:10.1016/j.jss.2017.03.050.
- [8] Al. LP-C et. NIH Public Access 2014;14:15–56.
- [9] Yi H, Rehman FU, Zhao C, Liu B, He N. Recent advances in nano scaffolds for bone repair. *Nat Publ Gr* 2016. doi:10.1038/boneres.2016.50.
- [10] Rezwani K, Chen QZ, Blaker JJ, Roberto A. Biodegradable and bioactive porous polymer / inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering 2006;27:3413–31. doi:10.1016/j.biomaterials.2006.01.039.
- [11] Niranjana R, Koushik C, Saravanan S, Moorthi A, Vairamani M, Selvamurugan N. International Journal of Biological Macromolecules A novel injectable temperature-sensitive zinc doped chitosan / α -glycerophosphate hydrogel for bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol* 2013;54:24–9. doi:10.1016/j.ijbiomac.2012.11.026.
- [12] Motamedian SR, Hosseinpour S, Ahsaie MG, Khojasteh A. Smart scaffolds in bone tissue engineering: A systematic review of literature 2015;7:657–68. doi:10.4252/wjsc.v7.i3.657.
- [13] Agrawal P, Pramanik K. Chitosan-poly(vinyl alcohol) nanofibers by free surface electrospinning for tissue engineering applications. *Tissue Eng Regen Med* 2016;13:485–97. doi:10.1007/s13770-016-9092-3.
- [14] Charernsriwilaiwat N, Opanasopit P, Rojanarata T. Preparation and characterization of chitosan-hydroxybenzotriazole / polyvinyl alcohol blend nanofibers by the electrospinning technique. *Carbohydr Polym* 2010;81:675–80. doi:10.1016/j.carbpol.2010.03.031.
- [15] Rao SH, Harini B, Shadamarshan RPK, Balagangadharan K, Selvamurugan N. Natural and Synthetic Polymers / Bioceramics / Bioactive Compounds-mediated Cell Signaling in Bone Tissue Engineering. *Int J Biol Macromol* 2017. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.09.029.
- [16] Chetty A, Wepener I, Marei MK, Kamary Y EI, Moussa RM. H YDROXYAPATITE : S YNTHESIS , n.d.
- [17] Ferraz MP, Monteiro FJ, Manuel CM. Hydroxyapatite nanoparticles: A review of 2004:74–80.
- [18] Liu C, Huang Y, Shen W, Cui J. Kinetics of hydroxyapatite precipitation at pH 10 to 11 2001;22:301–6.
- [19] Fella BH, Layrolle P. Sol – gel synthesis and characterization of macroporous calcium phosphate bioceramics containing microporosity. *Acta Biomater* 2009;5:735–42. doi:10.1016/j.actbio.2008.09.005.
- [20] Taylor P, Le VQ, Pourroy G, Cochis A, Rimondini L, Abdel-fattah WI, et al. on titanium alloy implants Alternative technique for calcium phosphate coating on titanium alloy implants 2014:37–41. doi:10.4161/biom.28534.
- [21] Sun Y, Ā GG, Tao D, Wang Z. Reverse microemulsion-directed synthesis of hydroxyapatite nanoparticles under hydrothermal conditions 2007;68:373–7. doi:10.1016/j.jpccs.2006.11.026.
- [22] Li W, Laurencin CT, Caterson EJ, Tuan RS, Ko FK. Electrospun nanofibrous structure: A novel scaffold for tissue engineering 2001.
- [23] Z Sheikh, S Najeeb, Z Khurshid, V Verma, H Rashid MG. Biodegradable Materials for

- Bone Repair and Tissue Engineering Applications 2015:5744–94. doi:10.3390/ma8095273.
- [24] AY A, H Z, SN K. Characterization of Electrospinning Parameters of Chitosan/ Poly(vinyl alcohol) Nanofibers to Remove Phenol via Response Surface Methodology. *Polym Sci* 2018;04:1–9. doi:10.4172/2471-9935.100033.
- [25] Li D, Xia Y. Direct Fabrication of Composite and Ceramic Hollow Nanofibers by Electrospinning 2004.
- [26] Liu H, Ding X, Zhou G, Li P, Wei X, Fan Y. Electrospinning of Nanofibers for Tissue Engineering Applications 2013;2013.
- [27] Ruiz-santos R, Monreal-romero H, Chacon-nava JG, Chihuahua CI, Cp C. PVA / HAP composite with pork bone precursor obtained by electrospinning. *Micro Nano Lett* 2017;12:321–4. doi:10.1049/mnl.2016.0591.
- [28] Mohammad Saied Enayatia B. Development of electrospun poly (vinyl alcohol)-based bionanocomposite scaffolds for bone tissue engineering Mohammad Saied Enayati , T. Behzad. *J Biomed Mater Res* 2018.
- [29] Hartatiek RD, Hartanto YA, Hidayat N. The Effect of Sonication Duration on the Characteristics of Nano Hydroxyapatite-Silica (nHAp / SiO 2) Composite and its Mechanical Properties The Effect of Sonication Duration on the Characteristics of Nano Hydroxyapatite-Silica (nHAp / SiO 2) Composi. *Ournal Phys Conf Ser* 2018.
- [30] Gaaz TS, Sulong AB, Akhtar MN, Kadhum AAH, Mohamad AB, Al-amriery AA. Properties and Applications of Polyvinyl Alcohol , Halloysite Nanotubes and Their Nanocomposites 2015:22833–47. doi:10.3390/molecules201219884.
- [31] Nanotechnology J, Alwan TJ, Toma ZA, Kudhier MA, Ziadan KM. Madridge Preparation and Characterization of the PVA nanofibers produced by Electrospinning n.d.:1:1–3. doi:10.18689/mjnn.2016-101.
- [32] Zhang H, Fu Q, Sun T, Chen F, Qi C, Wu J, et al. Amorphous Calcium Phosphate, Hydroxyapatite and Poly(D,L-Lactic Acid) Composite Nanofibers: Electrospinning Preparation, Mineralization and In Vivo Bone Defect Repair. Elsevier B.V.; 2015. doi:10.1016/j.colsurfb.2015.08.015.
- [33] Kim G, Asran AS, Michler GH, Simon P, Kim J. Electrospun PVA / HAp nanocomposite nanofibers : biomimetics of mineralized hard tissues at a lower level of complexity n.d.:046003. doi:10.1088/1748-3182/3/4/046003.
- [34] Doustgani A. Optimization of mechanical and structural properties of PVA nanofibers. *J Ind Text* 2015:1–13. doi:10.1177/1528083715601511.
- [35] Abd El-aziz AM, El-Maghraby A, Taha NA. Comparison between polyvinyl alcohol (PVA) nanofiber and polyvinyl alcohol (PVA) nanofiber/hydroxyapatite (HA) for removal of Zn²⁺ ions from wastewater. *Arab J Chem* 2017;10:1052–60. doi:10.1016/j.arabjc.2016.09.025.
- [36] Sharifi F, Bai Z, Montazami R, Hashemi N. Mechanical and physical properties of poly(vinyl alcohol) microfibers fabricated by a microfluidic approach. *RSC Adv* 2016;6:55343–53. doi:10.1039/C6RA09519D.
- [37] Tri Windarti dan Yayuk Astuti. THE INFLUENT OF Ca²⁺ AND (PO₄)³⁻ CONCENTRATION TO THE BUILDING OF HYDROXYAPATITE IN BACTERIAL

- CELLULOSE MATRIX 2006;IX:60–4.
- [38] Ha KPVA. Electrospun Hydroxyapatite Containing Polyvinyl Alcohol Nanofibers Doped with Nanogold for Bone Tissue Engineering. *Interceram* 2017:96–100.