

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit jamur topikal pada kulit, rambut, kuku, dan luka manusia merupakan masalah yang meluas di seluruh dunia. Tingginya prevalensi infeksi jamur superfisial (20-25% dari populasi global) menempatkan penyakit ini dalam daftar bentuk infeksi yang paling sering terjadi. Diperkirakan, sekitar satu miliar individu di seluruh dunia menderita dermatomikosis (Herculano *et al.*, 2024). Infeksi jamur pada luka menjadi salah satu masalah yang cukup menantang dalam penatalaksanaannya. Luka yang terinfeksi jamur, meskipun jarang, berhubungan dengan tingkat morbiditas dan mortalitas yang tinggi (Pruskowski *et al.*, 2021). Meskipun telah ada kemajuan dalam sistem pembalut luka selama beberapa tahun terakhir, efektivitas terbatas dari perawatan yang tersedia saat ini masih menjadi tantangan. Oleh karena itu, dibutuhkan eksplorasi pendekatan inovatif untuk pengembangan sistem baru dengan kinerja yang lebih baik dalam mempercepat penyembuhan luka dan regenerasi kulit (Ribeiro *et al.*, 2021).

Kulit alami dianggap sebagai penutup luka yang ideal karena sifatnya yang tidak akan memberikan gangguan jika aplikasikan dalam jangka waktu lama. Hal ini menjadi dasar dalam pengembangan pembalut luka (*wound dressing*), yaitu untuk meniru sifat kulit dengan kandungan air 85% dan permeabilitas yang baik. Pembalut luka yang dikembangkan diharapkan mampu untuk meniru sifat kulit dan dapat digunakan lebih lama seiring dengan peningkatan proses penyembuhan (Singh and Pal, 2012). Pembalut luka ditujukan untuk menutupi dan melindungi luka, menopang bagian tubuh yang terluka, menempelkan benda pada kulit yang terluka, mengurangi terjadinya pendarahan, membantu pembekuan darah, penyerapan cairan berlebih, dan debridemen luka (pembuangan jaringan yang terinfeksi untuk mempercepat proses penyembuhan) (Corradini *et al.*, 2022). Terdapat berbagai jenis pembalut luka, dan salah satu yang menarik adalah pembalut luka berbahan hidrogel.

Hidrogel merupakan jaringan dari polimer tiga dimensi yang bersifat hidrofilik sehingga dapat menyerap air maupun cairan biologis dalam jumlah besar (Haryanto, 2021). Pembalut luka hidrogel memiliki sifat yang dapat memenuhi persyaratan pembalut luka yang ideal. Hidrogel dapat mengendalikan rasa sakit dengan cepat, mudah diaplikasikan kembali, transparansi untuk tindak lanjut penyembuhan, perlindungan terhadap mikroba, permeabel terhadap gas dan uap air, dan dapat



menghantarkan obat dengan dosis yang terkendali (Singh and Pal, 2021). Hidrogel melibatkan ikatan molekul yang terpaat silang atau lebih rantai monomer hidrofilik baik secara fisika maupun kimia (Sánchez-Cid *et al.*, 2022).

Salah satu polimer pembentuk hidrogel yang banyak diteliti dalam bidang biomedik adalah poli(vinil alkohol) atau PVA (Sánchez-Cid

et al., 2022). PVA telah dipelajari sebagai polimer *biodegradable* yang potensial serta memiliki sifat biokompatibilitas yang tinggi, hidrofilisitas dan transparansi yang baik, serta biodegradabilitas dan toksisitas yang rendah, khususnya dalam aplikasinya sebagai pembalut luka (Bursali *et al.*, 2011). PVA umumnya dipautsilangkan dengan asam dikarboksilat untuk mendapatkan hidrogel dengan stabilitas jaringan yang baik (Himawan *et al.*, 2023). Asam oksalat merupakan salah satu dari golongan asam dikarboksilat yang sering digunakan sebagai agen pengikat silang dalam formulasi hidrogel dengan PVA karena menghasilkan hidrogel dengan biokompatibilitas yang tinggi (De Campos *et al.*, 2023).

Beberapa penelitian telah menunjukkan kemampuan PVA dalam membentuk hidrogel dengan karakteristik yang sesuai untuk digunakan sebagai penutup luka. Penelitian (Alexandrino-Junior *et al.*, 2019) menunjukkan bahwa hidrogel PVA memiliki kemampuan untuk menyerap air sebanyak empat kali dari beratnya sehingga dapat membantu mengeluarkan sekresi yang terdapat pada 86,9% lesi dan bermanfaat bagi proses penyembuhan luka. Penelitian Singh dan Pal (2012) menunjukkan bahwa hidrogel PVA dapat menyerap cairan dalam jumlah besar dan cocok untuk luka dengan eksudat sedang hingga tinggi.

Untuk memodifikasi karakteristik hidrogel, penambahan bahan polimer dapat dilakukan guna membentuk komposit yang memiliki sifat yang diinginkan (Himawan *et al.*, 2023). Poli(vinilpirolidon) (PVP) merupakan polimer yang banyak diteliti, terutama dalam kombinasi dengan PVA, untuk aplikasi di berbagai bidang, termasuk pengembangan material hidrogel. PVP diketahui merupakan material yang biokompatibel, serta memiliki stabilitas kimia yang baik. PVP yang bersifat semipermeabel memungkinkan permeasi oksigen secara selektif dan efektif dalam menghambat kontaminasi mikroba (Gounden and Singh, 2024). Polimer lainnya yang banyak diteliti adalah kitosan. Polimer ini cukup unggul sebagai bahan penutup luka karena bersifat antimikroba sehingga mampu mempercepat penyembuhan luka (Alfuryadi *et al.*, 2022).

Untuk mendapatkan efek antijamur pada penutup luka, bahan antijamur dapat ditambahkan (Herculano *et al.*, 2024). Amfoterisin B (AMB) merupakan bahan aktif yang telah disetujui oleh FDA dalam penggunaan hidrogel untuk luka kronis karena efikasinya yang tinggi sebagai antijamur (Firlar *et al.*, 2022). Hidrogel penutup luka yang mengandung AMB menunjukkan ketahanan terhadap permeasi mikroba dan menunjukkan aktivitas yang efektif terhadap *Candida albicans* serta tidak menunjukkan potensi sitotoksik. Selain itu, AMB dalam penutup luka juga menunjukkan aktivitas farmakologis yang efisien dan biokompatibilitas yang sesuai serta menunjukkan potensi besar dalam penerapan sistem pengobatan topikal (Firlar *et al.*, 2019).



belum ada penelitian yang secara spesifik menganalisis penutup luka berbasis PVA-PVP-Kitosan melalui reaksi pautan silang dengan asam oksalat yang mengandung AMB. Penelitian ini akan menganalisis pengaruh jumlah kitosan sebagai salah satu bahan penyusun terhadap karakteristik, kemampuan muat obat, dan pelepasan

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dari penelitian ini adalah bagaimanakah karakteristik hidrogel penutup luka berbasis PVA-PVP-Kitosan terpaut silang yang mengandung AMB, yang dibuat dengan berbagai konsentrasi kitosan?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang di atas, maka tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis karakteristik hidrogel sebagai penutup luka berbasis PVA-PVP-Kitosan terpaut silang yang mengandung AMB, yang dibuat dengan berbagai konsentrasi kitosan.



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan selama 4 bulan dimulai dari bulan September 2024 hingga bulan Januari 2025 di Laboratorium Farmasetika lantai 1, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin. Keseluruhan alur penelitian dapat dilihat pada lampiran 1.

2.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu cetakan silikon (merk lokal), jangka sorong (Tricle Brand®), mikropipet (Dragon onemed®), pH meter (HANNA®), *orbital shaker* (Optima®), oven (Mettler®), sentrifugasi (Oregon® LC-04S), spektrofotometer UV-Visibel (Dynamica® HALO XB-10), spektrometer FTIR (AccuTrac-4100 series), timbangan analitik (Sartorius®), viskometer RV (Brookfield®), peralatan gelas lainnya (Pyrex®), dan peralatan penunjang lainnya.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu AMB (Sigma aldrich®), baku pembanding AMB (BPOM Indonesia), air murni (Waterone®), asam oksalat dihidrat (Supelco®), dinatrium hidrogen fosfat (Merck®), dimetil sulfoksida (DMSO) (Merck®), gliserin (Sumber Rejeki), kalium klorida (Merck®), kalium dihidrogen fosfat (Merck®), kitosan berat molekul rendah (Sigma aldrich®), natrium klorida (Merck®), PVA 13.000 – 23.000 g/mol derajat hidrolisis 87 – 89% (Sigma aldrich®), PVP K-30 (Nurra gemilang lab®), sodium lauril sulfat (Merck®), dan bahan-bahan penunjang lainnya.

2.3 Prosedur Kerja

2.3.1 Pembuatan larutan stok polimer

Larutan stok PVA 40% b/b dibuat dengan mendispersikan PVA ke dalam air murni. Selanjutnya, dispersi PVA dalam air tersebut dipanaskan pada 90°C dalam oven selama 24 jam sambil sesekali diaduk hingga diperoleh larutan yang homogen. Larutan stok PVP 40% b/b dibuat dengan mendispersikan polimer dengan air murni kemudian dihidrasi semalaman lalu diaduk hingga diperoleh larutan yang homogen. Larutan stok kitosan 5% b/b dibuat dengan mencampur kitosan dengan asam asetat glasial 10% v/v kemudian dihidrasi selama 24 – 48 jam sambil sesekali diaduk hingga diperoleh larutan yang homogen.



drogel

nggunakan metode ikatan silang secara kimia (*chemical* modifikasi dari metode yang dipublikasikan oleh (Himawan et al. 2019)). Larutan stok polimer dan asam oksalat yang diperlukan kemudian campuran polimer ditambahkan ke dalam campuran asam

oksalat dan air murni. Campuran polimer dan asam kemudian disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 15 menit untuk menghilangkan gelembung udara yang terbentuk. Sebanyak 0,3 g campuran dipindahkan ke dalam cetakan silikon ($1 \times 1 \times 1$ cm), diikuti dengan pengeringan udara pada suhu ruang selama 48 jam. Film polimer yang terbentuk kemudian dipotong menjadi lingkaran dengan diameter 8 mm menggunakan pelubang kertas. Film tersebut selanjutnya ditempatkan dalam oven selama 2 jam pada suhu 120°C . Material yang telah dipanaskan dikeluarkan dari oven dan dibiarkan hingga mencapai suhu ruang sebelum disimpan dalam wadah kedap udara untuk percobaan selanjutnya.

Tabel 1. Formulasi dasar campuran polimer (%b/b)

Formula	PPChi ₀	PPChi ₅	PPChi ₁₀	PPChi ₁₅	PPCh ₂₀
Asam oksalat	3	3	3	3	3
PVA 40%	50	50	50	50	50
PVP 40%	20	20	20	20	20
Kitosan 5%	0	5	10	15	20
Air murni	27	22	17	12	7

2.3.3 Uji viskositas dan tipe aliran

Pengujian viskositas dilakukan untuk menentukan viskositas pada masing-masing campuran polimer sebelum dicetak. Viskositas diuji menggunakan viskometer Brookfield RV pada kecepatan 50 rpm. Untuk penentuan jenis aliran, dispersi polimer diukur viskositasnya pada beberapa tingkat kecepatan (Yenny Harliantika and Noval, 2021).

2.3.4 Uji pengembangan hidrogel

Sampel film yang telah dipotong menjadi lingkaran dengan diameter 8 mm menggunakan pelubang kertas ditimbang dan massa awal hidrogel dicatat (m_0). Sampel kemudian direndam dalam air dan diukur perubahan bobotnya pada interval waktu 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, dan 24 jam (m_t). Sebelum ditimbang, permukaan hidrogel dikeringkan dengan kertas saring untuk menghilangkan sisa cairan dipermukaannya. Data yang diperoleh kemudian digunakan untuk mengetahui jumlah air yang dapat diserap oleh hidrogel tiap waktunya dinyatakan sebagai persentase pembengkakan (%S). Grafik pembengkakan dibuat dengan memplot nilai %S terhadap waktu (t) (Alexandrino-Junior *et al.*, 2019; Elim *et al.*, 2023).



$$\%S = \frac{(m_t - m_0)}{m_0} \times 100 \quad (1)$$

am, hidrogel yang tersisa dikeringkan di dalam oven. Nilai *m* Water Content (%EWC) dihitung dengan menggunakan

rumus yang tertera pada persamaan 2, di mana m_{eq} adalah massa hidrogel pada titik waktu terakhir dan m_x adalah massa hidrogel kering (Himawan *et al.*, 2023).

$$\%EWC = \frac{(m_{eq} - m_x)}{m_x} \times 100 \quad (2)$$

Persentase fraksi gel (%GF) dihitung dengan membandingkan m_x sebagai massa hidrogel kering yang tersisa dan m_0 sebagai massa awal polimer, sesuai yang tercantum persamaan 3 (Elim *et al.*, 2023).

$$\%GF = \frac{m_x}{m_0} \times 100 \quad (3)$$

2.3.5 Pembuatan larutan stok, penetapan panjang gelombang, dan pembuatan kurva baku AMB

Larutan stok yang mengandung AMB dengan konsentrasi 1.000 µg/ml dibuat dengan menimbang 10 mg AMB BPFI secara saksama dan dimasukkan ke dalam labu tentukur, lalu ditambahkan DMSO hingga mencapai konsentrasi yang diinginkan. Larutan AMB dibuat dalam 3 konsentrasi berbeda, yaitu 50 µg/ml, 25 µg/ml, dan 10 µg/ml dalam PBS, PBS+SLS 2%, serta PBS+gliserin 5%. Setiap konsentrasi diukur pada panjang gelombang berkisar antara 200 hingga 800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel. Untuk membuat kurva baku, dibuat larutan konsentrasi. Larutan kalibrasi disiapkan dalam lima konsentrasi mulai dari 3,125, 6,25, 12,5, 25, dan 50 µg/ml untuk kurva baku dengan pelarut PBS dan PBS+gliserin 5%, serta 1,25, 2,5, 5, 10, dan 20 µg/ml dengan pelarut PBS+SLS 2% (Mualim *et al.*, 2024).

2.3.6 Uji partisi AMB

Larutan AMB dalam PBS disiapkan dalam konsentrasi 100 µg/ml. Sebanyak 1 ml larutan solut ditempatkan dalam vial-vial terpisah di mana sepotong film hidrogel kemudian direndam (V_0). Vial yang berisi sampel dan larutan kontrol tanpa hidrogel ditempatkan di atas *orbital shaker* pada suhu ruang yang beroperasi pada kecepatan 40 rpm. Setelah 24 jam, jumlah AMB dalam larutan stok yang tersisa (C_s) dan larutan kontrol (C_0) diukur menggunakan spektrofotometer UV-Visibel. Perbedaan antara C_0 dan C_s dinyatakan sebagai jumlah AMB yang berpartisipasi ke dalam hidrogel. Volume hidrogel yang telah direndam di dalam larutan solut selanjutnya diukur menggunakan jangka sorong (V_h) (Himawan *et al.*, 2023).



$$Kd = \left(\frac{C_0}{C_s} - 1 \right) \frac{V_0}{V_h} \quad (4)$$

elarutan AMB, kondisi sink, dan pemuatan obat

liikat silang dengan asam oksalat selanjutnya direndam dalam alam PBS-gliserin. Larutan jenuh AMB disiapkan dengan cara

melarutkan AMB berlebih dalam PBS pH 7,4 yang mengandung gliserin 5% dengan bantuan sonikator. Pemuatan obat dilakukan dengan merendam hidrogel kering dengan larutan AMB hingga hidrogel berkembang dengan sempurna. Kelebihan larutan obat dihilangkan dengan kertas saring dan HWD (*Hydrogel Wound Dressing*)-AMB yang diperoleh disimpan dalam wadah tertutup kedap untuk pengujian selanjutnya.

2.3.8 Uji pelepasan obat secara *in vitro*

Pelepasan obat diuji secara *in vitro*. Sampel HWD-AMB dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf kemudian ditambahkan media PBS+SLS 2% sebanyak 1 ml. Pada interval 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, dan 24 jam, sebanyak 1 mL media dikeluarkan dan diganti kembali menggunakan media segar dengan jumlah yang sama. Kemudian absorbansi sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 414 nm (Mualim *et al.*, 2024; Rethikala *et al.*, 2017).

2.3.9 Evaluasi pH

Satu buah sampel film hidrogel direndam dalam 50 ml air murni dan didiamkan selama 15 menit pada suhu ruang. Kemudian pH diukur dengan menempatkan elektroda pada permukaan film hidrogel dan pH dicatat saat mencapai kesetimbangan setelah 1 menit (Elim *et al.*, 2023).

2.3.10 Analisis *Fourier-Transform Infrared* (FTIR) spektroskopi

Analisis FTIR dilakukan menggunakan untuk menganalisis gugus fungsi dan ikatan kimia pada bahan baku dan hidrogel untuk mendeteksi perubahan kimia yang terjadi selama proses fabrikasi hidrogel. Pengukuran semua sampel dilakukan pada bilangan gelombang 4000 – 400 cm^{-1} dengan 32 *scans* pada resolusi 4 cm^{-1} (Elim *et al.*, 2023).

2.3.11 Uji hemolisis

Sel darah merah dari tikus (*Rattus norvegicus*) yang telah mendapat izin etik (*) digunakan sebagai sampel skrining untuk mengetahui kerusakan sel darah merah akibat keberadaan AMB dalam hidrogel. Sampel darah disentrifugasi pada kecepatan 2000 rpm selama 20 menit untuk memperoleh plasma dan sel darah merah. Sel darah merah dicuci menggunakan PBS sebanyak 3 kali untuk mendapatkan yang jernih. Setelah disentrifugasi, sel darah merah tidak diperoleh konsentrasi akhir 10% v/v. Sampel kemudian konsentrasi yaitu 500, 50, dan 5 ppm menggunakan PBS. Seri lain 1 ml terdiri dari masing-masing 900 μl larutan hidrogel yang tidak dimuat dengan AMB. Masing-masing tambahkan dengan 100 μl suspensi sel darah merah lalu 37°C selama 60 menit. Kontrol positif yang digunakan adalah



air murni dan kontrol negatif yang digunakan adalah PBS. Larutan yang telah diinkubasi selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh diukur menggunakan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang maksimum AMB. Persentase hemolisis dihitung menggunakan persamaan 4 (Elim *et al.*, 2023).

$$\% \text{hemolisis} = \left(\frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{absorbansi kontrol negatif}}{\text{Absorbansi kontrol positif} - \text{absorbansi kontrol negatif}} \right) \times 100 \quad (5)$$

(*) Nomor etik: UH20110635

2.4 Analisis Data, Pembahasan Hasil, dan Penarikan Kesimpulan

Penelitian ini akan menggunakan pendekatan analitis yang sistematis untuk mengevaluasi hasil yang diperoleh. Data yang diperoleh dari eksperimen akan dianalisis menggunakan perangkat GraphPad untuk menentukan signifikansi data, dengan menggunakan uji statistik yang sesuai, tergantung pada jenis data dan desain percobaan. Pembahasan hasil akan mencakup interpretasi data yang diperoleh, mengaitkannya dengan literatur yang relevan, serta membahas implikasi dari temuan yang dihasilkan. Penarikan kesimpulan akan dilakukan berdasarkan analisis dan pembahasan, merangkum temuan utama penelitian, menjawab rumusan masalah serta tujuan penelitian, dan memberikan rekomendasi untuk penelitian selanjutnya.

