

**UJI STABILITAS DAN PELEPASAN
S-NITROSOGLUTATHIONE DARI SEDIAAN *IN SITU*
HIDROGEL HIDROKSI PROPIL METIL SELULOSA
DAN KARBOKSI METIL KITOSAN**

**STABILITY AND RELEASE TESTS OF
S-NITROSOGLUTATHIONE FROM THE *IN SITU*
HYDROGEL PREPARATION OF HYDROXY PROPYL
METHYL CELLULOSE AND CARBOXY METHYL
CHITOSAN**

**ELMA FATRESIA PALEBANGAN
N011191097**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**UJI STABILITAS DAN PELEPASAN
S-NITROSOGLUTATHIONE DARI SEDIAAN *IN SITU*
HIDROGEL HIDROKSI PROPIL METIL SELULOSA
DAN KARBOKSI METIL KITOSAN**

**STABILITY AND RELEASE TESTS OF
S-NITROSOGLUTATHIONE FROM THE *IN SITU*
HYDROGEL PREPARATION OF HYDROXY PROPYL
METHYL CELLULOSE AND CARBOXY METHYL
CHITOSAN**

**ELMA FATRESIA PALEBANGAN
N011191097**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**UJI STABILITAS DAN PELEPASAN S-NITROSOGLUTATIONE DARI
SEDIAAN *IN SITU* HIDROGEL HIDROKSI PROPIL METIL SELULOSA
DAN KARBOKSI METIL KITOSAN**

**STABILITY AND RELEASE TESTS OF S-NITROSOGLUTATIONE
FROM THE *IN SITU* HYDROGEL PREPARATION OF HYDROXY
PROPYL METHYL CELLULOSE AND CARBOXY METHYL CHITOSAN**

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

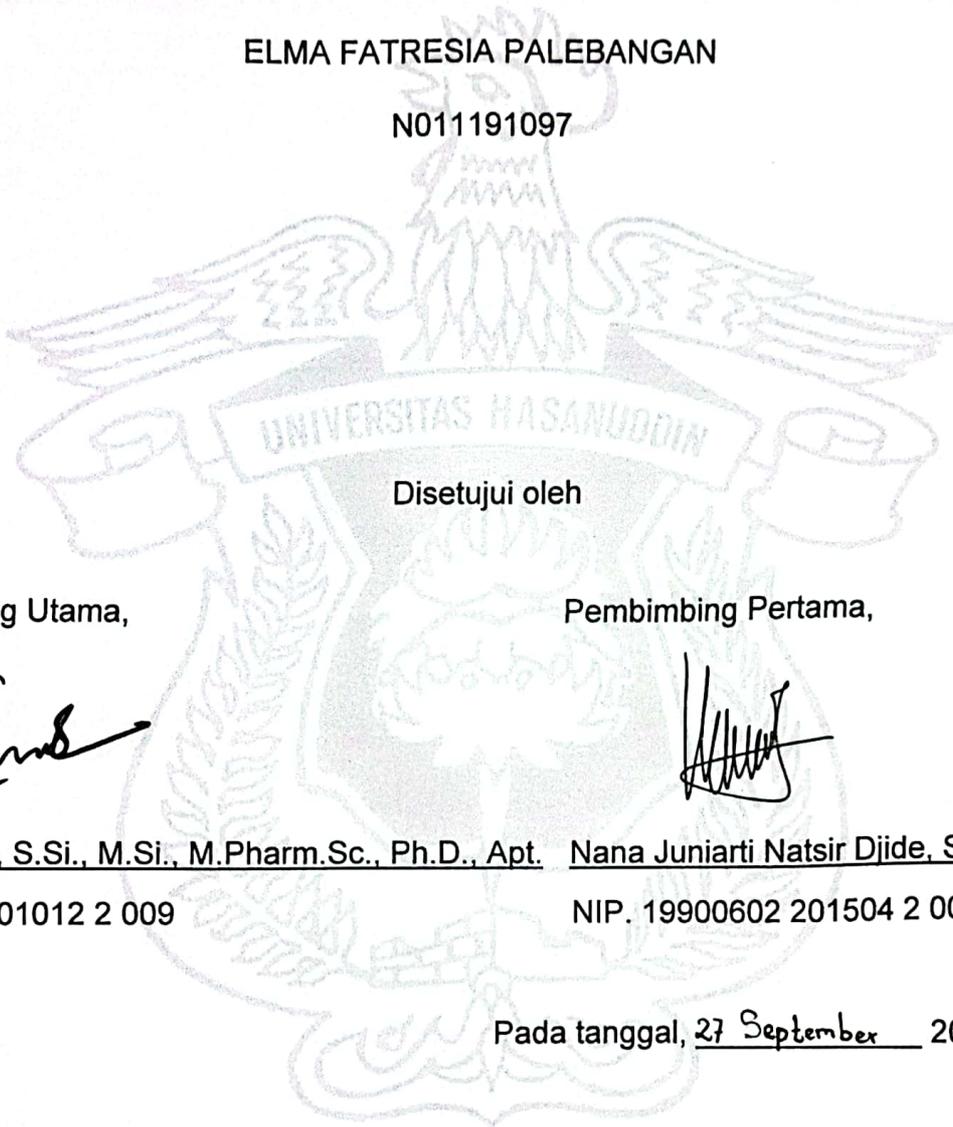
**ELMA FATRESIA PALEBANGAN
N011191097**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

UJI STABILITAS DAN PELEPASAN S-NITROSOGLUTATHIONE DARI
SEDIAAN *IN SITU* HIDROGEL HIDROKSI PROPIL METIL SELULOSA
DAN KARBOKSI METIL KITOSAN

ELMA FATRESIA PALEBANGAN

N011191097



Disetujui oleh

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pertama,

Handwritten signature of Nurhasni Hasan in black ink.

Handwritten signature of Nana Juniarti Natsir Djide in black ink.

Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt.

NIP.19860116 201012 2 009

NIP. 19900602 201504 2 002

Pada tanggal, 27 September 2023

SKRIPSI
UJI STABILITAS DAN PELEPASAN S-NITROSOGLUTATHIONE DARI
SEDIAAN *IN SITU* HIDROGEL HIDROKSI PROPIL METIL SELULOSA
DAN KARBOKSI METIL KITOSAN

STABILITY AND RELEASE TESTS OF S-NITROSOGLUTATHIONE
FROM THE *IN SITU* HYDROGEL PREPARATION OF HYDROXY
PROPYL METHYL CELLULOSE AND CARBOXY METHYL CHITOSAN

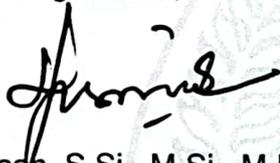
Disusun dan diajukan oleh :

ELMA FATRESIA PALEBANGAN
N011191097

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 24 Agustus 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.

NIP.19860116 201012 2 009

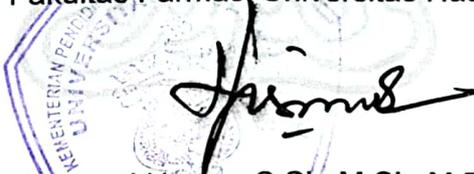
Pembimbing Pertama,



Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt.

NIP. 19900602 201504 2 002

Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.

NIP. 19860116 201012 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar adalah hasil karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh batal demi hukum.

Makassar, 27 September 2023



Yang menyatakan

Eluf

Elma Fatresia Palebangan
N011 19 1097

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat, rahmat, dan petunjuk-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana di Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa adanya dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan rasa terima kasih dan apresiasi yang setinggi-tingginya kepada:

1. Ibu Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama dan Ibu Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu dan tenaga, membimbing, mengarahkan, serta memberi motivasi dan masukan kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Prof. Dr. Latifah Rahman, DESS., Apt. dan Ibu Yulia Yusrini Djibir, S.Si., MBM.Sc.,Ph.D., Apt selaku tim penguji yang telah memberikan masukan serta saran untuk menyempurnakan skripsi ini.
3. Ibu Yulia Yusrini Djibir, S.Si., MBM.Sc.,Ph.D., Apt juga selaku dosen penasihat akademik yang senantiasa memberikan dukungan dan motivasi dalam proses studi hingga penyelesaian skripsi.
4. Dekan dan para Wakil Dekan, serta seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu, motivasi, bantuan,

dan segala fasilitas yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.

5. Orang tua tercinta, Bapak Petrus Lomban dan Ibu Hermin Besse Bara Padang serta kedua kakak tersayang Frans Rian Palebangan dan Andreas Chelsia Palebangan serta anggota keluarga lainnya yang telah memberikan doa, perhatian, dan motivasi dalam bentuk apapun kepada penulis.
6. Regina Aulia Puspita selaku partner dalam penelitian yang telah banyak membantu dan menemani penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.
7. Teman-teman Korps. Asisten Farmasetika serta terkhususnya Ibu Sumiati selaku laboran Lab Farmasetika yang telah memberi ilmu, menuntun, dan menyediakan fasilitas kepada penulis selama melaksanakan penelitian.
8. Teman seperjuangan "LIPID" yaitu Eka Kurnia Pla'bistoni, Grace Virgita Galla Ada', Indah Lestari, Renita Vitha Viona, Martrisna Dara Karnia Parenden yang senantiasa memberi dukungan, semangat dan bantuan selama masa perkuliahan hingga saat ini.
9. Teman dekat penulis Rini, Ifka, Adin, Arda, Uri, Amanda, Veronika, Destasya, Aileen, Kania dan Ucha atas dukungan, nasihat dan perhatian yang tulus diberikan kepada penulis selama ini.
10. Teman-teman KKNT Toraja Utara "Basokan Team" yang telah memberikan dukungan serta perhatian kepada penulis.

11. Semua pihak yang telah membantu dan tidak dapat disebutkan namanya satu per satu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan adanya saran maupun tanggapan dari berbagai pihak sehingga dapat menjadikan skripsi ini ke arah yang lebih baik. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat demi pengembangan ilmu pengetahuan dan dipergunakan sebaik-baiknya.

Makassar, 27 September 2023



Elma Fatresia Palebangan

ABSTRAK

ELMA FATRESIA PALEBANGAN. Uji Stabilitas dan Pelepasan S-Nitrosoglutathione dari Sediaan *In Situ* Hidrogel Hidroksil Propil Metil Selulosa dan Karboksi Metil Kitosan (dibimbing oleh Nurhasni Hasan dan Nana Juniarti Natsir Djide)

Salah satu pembalut luka yang efektif digunakan untuk luka kronis adalah sediaan *in situ* hidrogel. Pengujian stabilitas dan pelepasan obat adalah evaluasi penting pada sediaan farmasi. Sediaan *in situ* hidrogel diformulasikan menggunakan hidroksi propil metil selulosa (HPMC) dan karboksi metil kitosan (CMCS) sebagai polimer serta S-Nitrosoglutathione (GSNO) sebagai zat aktif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas sediaan *in situ* hidrogel serta profil pelepasan GSNO dalam sediaan menggunakan empat formula dengan perbandingan HPMC:CMCS:GSNO yaitu F1 (2,5%:0,5%:1%), F2 (5%:0,5%:1%), F3 (7,5%:0,5%:1%), F4 (7,5%:0,5%:0%). Evaluasi meliputi uji stabilitas (organoleptis, pH dan kandungan obat) yang dilakukan selama 14 hari pada suhu -20°C , 8°C , dan $25\pm 3^{\circ}\text{C}$. Selain itu, uji pelepasan GSNO secara *in vitro* dilakukan pada sediaan *in situ* hidrogel. Berdasarkan hasil pengujian stabilitas, menunjukkan penyimpanan pada suhu -20°C merupakan suhu penyimpanan paling optimal yang tidak menunjukkan perubahan organoleptis, pH dan kandungan obat pada sediaan *in situ* hidrogel. Hasil pengujian stabilitas selama 14 hari pada suhu -20°C diperoleh rentang pH 5,70-6,24 dan kandungan obat 95,74-96,00%. Konsentrasi HPMC tidak mempengaruhi signifikan terhadap stabilitas sediaan ($p>0,05$). Selanjutnya, hasil uji pelepasan secara *in vitro* menunjukkan semakin tinggi konsentrasi HPMC maka pelepasan obat menjadi lebih lambat. Semua formula menunjukkan pelepasan berkelanjutan ditandai dengan pelepasan GSNO yang terus meningkat dari waktu ke waktu. F1 merupakan formula yang melepaskan GSNO secara berkelanjutan hingga $32,44\pm 0,16\%$ selama 24 jam mengikuti kinetika *Korsmeyer-Peppas*. Dengan demikian, hasil penelitian menunjukkan bahwa semua formula *in situ* hidrogel stabil pada penyimpanan suhu -20°C dengan pola pelepasan berkelanjutan GSNO.

Kata kunci: stabilitas, pelepasan obat, GSNO, *in situ* hidrogel

ABSTRACT

ELMA FATRESIA PALEBANGAN. Stability and Release Tests of S-Nitrosoglutathione from The *In Situ* Hydrogel Preparation of Hydroxy Propyl Methyl Cellulose and Carboxy Methyl Chitosan (supervisor by Nurhasni Hasan and Nana Juniarti Natsir Djide)

One of the most effective wound dressings used for chronic wounds is hydrogel in situ preparation. Stability and drug release testing are critical examinations of pharmaceutical formulations. In situ hydrogel preparations are formulated using hydroxy propyl methyl cellulose (HPMC) and carboxy methyl chitosan (CMCS) as polymers and S-Nitrosoglutathione (GSNO) as active substances. This study aimed to determine the stability of the *in situ* hydrogel and the release profile of GSNO in preparations using four formulas with the ratio HPMC:CMCS:GSNO, namely F1 (2,5%:0,5%:1%), F2 (5%:0,5%:1%), F3 (7,5%:0,5%:1%), and F4 (7,5%:0,5%:0%). The evaluations comprised of stability tests (organoleptic, pH, and drug content), conducted over a period of 14 days at temperatures of -20°C , 8°C , and 25°C . Additionally, in vitro GSNO release tests were performed on *in situ* hydrogels. Based on the stability test results, it was shown that tested on -20°C was the most optimal storage temperature, which did not show changes in organoleptic, pH, or drug content on the GSNO in situ hydrogel. The stability test assessment conducted over a period of 14 days at a temperature of -20°C yielded a pH range of 5,70-6,24 and a drug content within the range of 95,74-96,00%. The concentration of HPMC did not have a significant impact on the stability of the preparation ($p>0,05$). Moreover, the outcomes of the in vitro release assay indicated a direct correlation between the concentration of HPMC and the rate of drug release, with greater HPMC concentrations resulting in slower release kinetics. All formulae demonstrate a sustained profile, characterized release of GSNO over an extended period of time. Formula 1 is designed to release GSNO in a controlled manner, gradually releasing approximately $32,44\pm 0,16\%$ over a period of 24 hours. This release follows the Korsmeyer-Peppas kinetics. The findings of the study indicate that the in situ hydrogel formulations were stable while stored at a temperature of -20°C with a sustained release pattern of GSNO.

Keywords: stability, drug release, GSNO, in situ hydrogel

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Kulit	5
II.1.1 Anatomi dan Fisiologi Kulit	5
II.1.2 Penyerapan Obat Melalui Kulit	7
II.2 <i>In Situ</i> Hidrogel	9
II.3 Mekanisme Pelepasan Obat	10
II.4 Stabilitas Obat	11
II.5 Uraian Bahan	12
II.5.1 <i>S-Nitrosoglutathione</i>	12

II.5.2 Hidroksi Propil Metil Selulosa	14
II.5.3 Karboksi Metil Kitosan	15
II.5.4 Gliserin	16
BAB III METODE PENELITIAN	17
II.1 Alat dan Bahan	17
II.2 Metode Kerja	17
II.2.1 Sintesis GSNO	18
II.2.2 Formulasi <i>In Situ</i> Hidrogel	18
II.2.3 Analisis Kandungan GSNO dalam <i>In Situ</i> Hidrogel	19
II.2.3.1 Pembuatan Larutan Stok GSNO	19
II.2.3.2 Penetapan Panjang Gelombang Serapan Maksimum GSNO	19
II.2.3.3 Pembuatan Kurva Baku GSNO	19
II.2.3.4 Penentuan Kandungan GSNO dalam <i>In Situ</i> Hidrogel GSNO	20
II.2.4 Uji Stabilitas	20
II.2.4.1 Pengamatan Organoleptis	20
II.2.4.2 Pengukuran pH	21
II.2.4.3 Pengukuran Kandungan GSNO dalam <i>In Situ</i> Hidrogel	21
II.2.5 Uji Pelepasan Secara In Vitro	21
II.3 Analisis Statistik	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	23
IV.1 Hasil Sintesis GSNO	24
IV.2 Stabilitas <i>In Situ</i> Hidrogel GSNO	26
IV.2.1 Organoleptis	26

IV.2.2 pH	28
IV.2.3 Kandungan Obat	31
IV.3 Uji Pelepasan Secara <i>In Vitro</i>	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	34
V.1 Kesimpulan	36
V.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	43

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Formula <i>in situ</i> hidrogel GSNO	18
2. Gugus fungsi hasil analisis FT-IR pada hasil sintesis GSNO	25
3. Hasil uji stabilitas organoleptis <i>in situ</i> hidrogel GSNO	26
4. Model kinetika pelepasan <i>in situ</i> hidrogel GSNO	34
5. Hasil organoleptis <i>in situ</i> hidrogel GSNO pada suhu $25\pm 3^{\circ}\text{C}$	45
6. Hasil organoleptis <i>in situ</i> hidrogel GSNO pada suhu 8°C	45
7. Hasil organoleptis <i>in situ</i> hidrogel GSNO pada suhu -20°C	46
8. Data uji stabilitas pH <i>in situ</i> hidrogel GSNO pada suhu -20°C	47
9. Data uji stabilitas pH <i>in situ</i> hidrogel GSNO pada suhu 8°C	47
10. Data uji stabilitas pH <i>in situ</i> hidrogel GSNO pada suhu $25\pm 3^{\circ}\text{C}$	48
11. Kurva baku GSNO	49
12. Data uji stabilitas kandungan obat <i>in situ</i> hidrogel GSNO pada suhu $25\pm 3^{\circ}\text{C}$	49
13. Data uji stabilitas kandungan obat <i>in situ</i> hidrogel GSNO pada suhu 8°C	50
14. Data uji stabilitas kandungan obat <i>in situ</i> hidrogel GSNO pada suhu -20°C	50
15. Data uji pelepasan obat secara <i>in vitro</i> F1	51
16. Data uji pelepasan obat secara <i>in vitro</i> F2	53
17. Data uji pelepasan obat secara <i>in vitro</i> F3	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Anatomi kulit	5
2. Struktur GSNO	13
3. Struktur HPMC	14
4. Struktur CMCS	15
5. Struktur gliserin	16
6. Desain uji pelepasan secara <i>in vitro</i>	22
7. Hasil sintesis GSNO	24
8. Spektra hasil FT-IR	25
9. Diagram batang uji stabilitas pH <i>in situ</i> hidrogel GSNO	29
10. Diagram batang uji stabilitas kandungan obat <i>in situ</i> hidrogel GSNO	31
11. Grafik uji pelepasan secara <i>in vitro in situ</i> hidrogel GSNO	33
12. Grafik kurva baku GSNO	48
13. Hasil analisis kinetika orde 0 <i>in situ</i> hidrogel F1	71
14. Hasil analisis kinetika orde 1 <i>in situ</i> hidrogel F1	71
15. Hasil analisis kinetika orde <i>Higuchi in situ</i> hidrogel F1	72
16. Hasil analisis kinetika orde <i>Korsmeyer-Peppas in situ</i> hidrogel F1	72
17. Hasil analisis model kinetika <i>Hixson-Crowell in situ</i> hidrogel F1	73

18. Proses sintesis GSNO	74
19. Formulasi <i>in situ</i> hidrogel	74
20. Uji pH	75
21. Uji pelepasan <i>in vitro</i>	75
22. Analisis dengan spektrofotometer UV-Vis	75

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema kerja umum	44
2. Hasil uji stabilitas organoleptis <i>in situ</i> hidrogel GSNO	45
3. Hasil uji stabilitas pH <i>in situ</i> hidrogel GSNO	47
4. Hasil uji stabilitas kandungan obat <i>in situ</i> hidrogel GSNO	49
5. Hasil uji pelepasan obat <i>in situ</i> hidrogel GSNO	51
6. Contoh perhitungan	57
7. Data hasil analisis statistika	59
8. Spektra FT-IR serbuk GSNO	70
9. Kinetika pelepasan <i>in situ</i> hidrogel GSNO	71
10. Dokumentasi	74

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Infeksi pada luka dapat berpotensi menyebabkan peradangan secara terus-menerus yang memperpanjang waktu penyembuhan bahkan menyebabkan terbentuknya luka kronis seperti ulkus diabetik (Kim *et al.*, 2015; Lee *et al.*, 2020). Secara umum, sebagian infeksi pada luka disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Saat ini prevalensi infeksi pada luka yang disebabkan oleh bakteri *Methicillin-resistant S. aureus* (MRSA) terus meningkat hingga mencapai 40-60% total kasus (Alhubail *et al.*, 2020). Resistensi MRSA terhadap beberapa antibiotik menjadi masalah serius sehingga diperlukan antibiotik yang efektif melawan bakteri MRSA dari luka untuk mempercepat proses penyembuhan luka (Hasan *et al.*, 2015).

Nitrit oksida (NO) merupakan antibakteri dengan spektrum luas yang dilaporkan menunjukkan efek terhadap bakteri Gram-negatif dan Gram-positif maupun terhadap MRSA (Lee *et al.*, 2019). Namun, NO memiliki waktu paruh yang sangat singkat sekitar 3-4 detik yang membatasi dalam aplikasi klinisnya sehingga dibutuhkan donor NO eksogen untuk mengatasi kekurangan sifat NO tersebut (Qian *et al.*, 2022). *S-Nitrosoglutathione* (GSNO) merupakan NO donor yang banyak digunakan sebagai sarana untuk melepaskan NO karena memiliki waktu paruh yang panjang dan

bersifat nontoksik (Póvoa *et al.*, 2020). Lingkungan asam pada kulit yang disebabkan oleh luka akan mendorong GSNO untuk melepaskan NO (Hornyak *et al.*, 2011; Poh and Rice, 2022). Namun, GSNO juga dapat mengalami dekomposisi melalui cahaya dan suhu panas secara cepat maka diperlukan pengembangan sistem penghantaran GSNO sebagai agen terapeutik untuk penyembuhan luka (Cao *et al.*, 2020).

In situ hidrogel merupakan sistem penghantaran obat yang setelah menyerap eksudat/cairan luka akan menjadi hidrogel (Ruel-Gariépy, 2004). Hidrogel mampu menciptakan dan mempertahankan lingkungan yang lembab. Menurut Asrizal *et al.*, (2022), penyembuhan luka dengan kondisi lembab dapat menyembuhkan tiga sampai lima kali lebih cepat daripada penyembuhan luka yang dibiarkan mengering. Kondisi lembab pada luka mampu menghancurkan jaringan yang rusak atau mati dan membantu meningkatkan produksi jaringan baru (Sari *et al.*, 2022). Menurut Balakrishnan *et al.*, (2005), penggunaan *in situ* hidrogel dalam penyembuhan luka dinilai lebih efektif dibandingkan plester luka konvensional (kain atau kasa) maupun sediaan lain karena tidak menimbulkan rasa sakit ketika dilakukan penggantian pada luka.

Pada formulasi, polimer memiliki peran penting dalam mengatur pelepasan obat dari suatu sediaan (Purnama and Mita, 2018). Karboksi metil kitosan (CMCS) merupakan polimer yang dinilai efektif karena bersifat nontoksik, biokompatibel dengan kulit manusia dan *biodegradable*. Namun penggunaan CMCS secara tunggal menghasilkan daya rekat yang relatif

rendah (Zhang *et al.*, 2021; Shariatinia, 2018). Kekurangan CMCS tersebut, dapat ditutupi dengan sifat yang dimiliki oleh hidroksi propil metil selulosa (HPMC). HPMC merupakan polimer yang baik dalam mengembang dan mampu memberikan pelepasan obat secara terkontrol pada sediaan hidrogel (Popa *et al.*, 2021). Penelitian yang dilakukan oleh Chen *et al.*, (2015), menunjukkan bahwa CMCS dan HPMC menghasilkan hidrogel dengan sifat retensi yang baik. Untuk menentukan konsentrasi polimer dengan pelepasan obat yang paling optimal, uji pelepasan dari matriks hidrogel perlu dilakukan.

Selain itu, sistem penyimpanan juga dapat mempengaruhi stabilitas dan mutu suatu sediaan. Menurut Lee *et al.*, (2019), GSNO dapat dengan mudah mengalami dekomposisi oleh suhu. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Melvin *et al.*, (2019), GSNO mengalami dekomposisi sebesar $0,4 \pm 0,6\%$ pada suhu lemari es (5°C) dan sebesar $10 \pm 4\%$ pada suhu ruang (22°C) selama 7 hari. Pada penelitian ini, GSNO diformulasikan dalam sediaan *in situ* hidrogel untuk meningkatkan stabilitas GSNO pada penyimpanan. Pengujian suhu dan waktu penyimpanan diperlukan untuk menentukan formulasi yang dapat mempertahankan stabilitas dari GSNO dalam sediaan *in situ* hidrogel. Oleh karena itu, penelitian ini difokuskan pada uji stabilitas dan pelepasan GSNO dari sediaan *in situ* hidrogel yang menggunakan matriks polimer kombinasi CMCS dan HPMC.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dari latar belakang di atas, maka diperoleh rumusan masalah dari penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana stabilitas sediaan *in situ* hidrogel GSNO yang diformulasi menggunakan kombinasi CMCS dan HPMC?
2. Bagaimana profil pelepasan sediaan *in situ* hidrogel GSNO yang diformulasi menggunakan kombinasi CMCS dan HPMC?

I.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian rumusan masalah di atas, maka diperoleh tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui stabilitas sediaan *in situ* hidrogel GSNO yang diformulasi menggunakan kombinasi CMCS dan HPMC.
2. Untuk mengetahui profil pelepasan sediaan *in situ* hidrogel GSNO yang diformulasi menggunakan kombinasi CMCS dan HPMC.

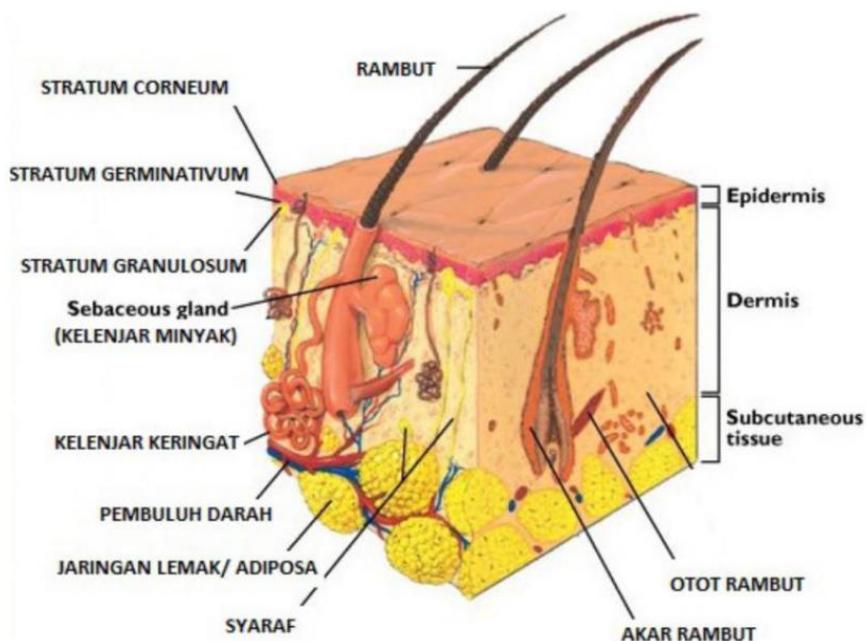
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Kulit

II.1.1 Anatomi dan Fisiologi Kulit

Kulit merupakan organ terbesar dan terluar dari tubuh yang terdiri dari tiga bagian inti yakni epidermis, dermis dan hipodermis (Asrizal *et al.*, 2022).



Gambar 1. Anatomi kulit (Asrizal *et al.*, 2022)

Epidermis merupakan komponen kulit terluar dan memiliki struktur yang sangat tipis. Ketebalan lapisan epidermis pada beberapa bagian tubuh berbeda-beda sehingga mempengaruhi ketebalan kulit seperti pada telapak tangan dan kaki berkisar 400 hingga 1400 μm sedangkan ketebalan lapisan epidermis pada kulit tipis (berambut) seperti pada bagian tubuh lainnya

berkisar 75 hingga 150 μm (Mescher, 2018). Epidermis terdiri atas lima lapisan dari dalam ke luar yaitu: (Setiawan *et al.*, 2013)

- a) *Stratum basal/ germinativum*: tersusun atas sel yang masih hidup dan akan berdiferensiasi membentuk lapisan di atasnya yaitu *stratum spinosum*.
- b) *Stratum spinosum*: terdiri dari sel keratinosit yang berasal dari *stratum basal* yang berfungsi untuk mengurangi tingkat kelembapan sel serta mencegah invasi mikroorganisme.
- c) *Stratum granulosum*: memiliki kandungan granula keratohialin yang mempengaruhi lapisan atas epidermis dalam membentuk keratin.
- d) *Stratum lucidum*: memiliki 2-3 sel yang tidak berinti dan hanya terletak pada bagian kulit yang cenderung tebal. Bagian kulit yang tebal terletak pada telapak tangan dan telapak kaki.
- e) *Stratum corneum*: terbentuk dari keratin dan berfungsi dalam melindungi lapisan kulit yang berada di area yang lebih dalam.

Dermis adalah lapisan kulit yang terletak di bawah epidermis. Pada bagian ini terdapat pembuluh darah, saraf sensorik dan simpatis, pembuluh limfe, folikel rambut serta kelenjar keringat dan sebasea. Selain itu, dermis juga mempunyai sel mast yang bertugas untuk mengeluarkan histamin pada saat cedera atau mengalami peradangan. Disamping itu, makrofag juga terdapat dalam dermis yang berfungsi pada fagositosis sel-sel mati dan mikroorganisme (Pramestiyani *et al.*, 2022).

Hipodermis atau lapisan subkutan merupakan lapisan kulit terdalam yang terdiri atas jaringan ikat longgar yang menjadi pemisah antaran otot dengan kulit dibawahnya. Jaringan ini mengandung kolagen serta lemak yang berfungsi dalam melakukan adaptasi terhadap berbagai perubahan suhu dan cuaca yang akan mengakibatkan perubahan nutrisi kulit (Susanto *et al.*, 2022).

II.1.2 Penyerapan Obat Melalui Kulit

Penyerapan obat melalui kulit terjadi melalui difusi pasif maupun difusi aktif. Difusi pasif merupakan penyerapan obat melalui jalur kompleks di sekitar korneosit pada *stratum korneum* dengan molekul obat melintasi lapisan lipid interseluler. Molekul hidrofilik berpindah melalui bagian kepala dari lipid sedangkan molekul lipofilik akan berpindah melalui rantai nonpolar atau bagian ekor lipid. Penyerapan obat ini dipengaruhi beberapa faktor seperti sifat-fisika kimia obat, skala waktu penetrasi, ketebalan *stratum korneum*, hidrasi kulit dan sifat pembawa. Sedangkan, difusi aktif merupakan penyerapan obat dengan melibatkan energi untuk menggerakkan molekul besar dan hidrofilik untuk mengurangi sifat barrier dengan berbagai mekanisme agar mampu melintasi *stratum korneum*. Salah satu mekanisme yang dilakukan adalah dengan pemberian *chemical enhancer* dalam upaya mempengaruhi struktur *stratum korneum*, berinteraksi dengan protein intraseluler atau memperbaiki partisi obat (Vig *et al.*, 2017).

Luka merupakan kerusakan atau kehilangan pada sebagian jaringan tubuh yang diakibatkan oleh trauma atau tumpul, paparan zat kimia, ledakan, serangan listrik, perubahan suhu, atau gigitan hewan (Wintoko *et al.*, 2020). Berdasarkan proses dan waktu penyembuhannya, luka dapat dikategorikan menjadi dua yaitu luka akut dan kronik. Luka akut adalah cedera jaringan yang proses penyembuhannya terjadi dalam jangka waktu waktu 8-12 minggu untuk dapat pulih seperti keadaan normal dengan bekas luka yang minim. Sementara itu, luka kronik adalah luka yang proses penyembuhan lebih lama sekitar lebih dari 12 minggu. Luka menjadi kronik biasanya disebabkan karena gagalnya pemulihan akibat infeksi yang terjadi berulang kali dan perawatan luka yang rendah (Purnama *et al.*, 2017). Dalam tahapan penyembuhan luka, terdapat empat tahapan mencakup homeostasis, inflamasi, proliferasi dan *remodelling*. Tahapan pertama yaitu homeostasis, tahap ini merupakan kondisi dimana bagian tubuh terluka atau berdarah. Pada tahap ini dimulai dengan pembuluh darah berkontraksi yang akan mengurangi pendarahan. Kemudian, trombosit akan saling menempel untuk menutupi dinding pembuluh darah yang rusak dan terjadi koagulasi (Sinno and Prakash, 2013). Tahap selanjutnya adalah fase inflamasi yang terjadi setelah pembuluh darah rusak. Selama fase ini sel darah putih, faktor pertumbuhan, nutrisi dan enzim bergerak menuju area luka yang menyebabkan pembengkakan, kemerahan, nyeri dan berbagai tahap peradangan untuk mencegah terjadi infeksi dan mengontrol

pendarahan. Inflamasi merupakan bagian alami dari proses penyembuhan luka dan akan memperpanjang proses penyembuhan luka jika terjadi secara terus-menerus. Selanjutnya, fase proliferasi yang dimulai dengan regenerasi jaringan baru pada area luka. Jaringan baru dibentuk dengan matriks ekstraseluler dan kolagen dengan pasokan oksigen dan nutrisi yang cukup (Tsala *et al.*, 2013). Tahap terakhir adalah fase *remodeling* atau maturasi, proses ini dapat berlangsung selama beberapa minggu hingga dua. Pada fase ini, kolagen yang baru terbentuk yang berguna dalam proses pengubahan bentuk luka dan meningkatkan kekuatan jaringan pada luka (Wintoko *et al.*, 2020).

II.2 *In Situ* Hidrogel

Sediaan *in situ* hidrogel merupakan sediaan yang setelah menyerap eksudat/cairan luka akan menjadi hidrogel (Ruel-Gariépy, 2004). *In situ* hidrogel dapat membantu kestabilan obat karena bebas air terutama pada bahan farmasi yang mudah terhidrolisis (Balakrishnan *et al.*, 2005). Sediaan ini mampu menciptakan lingkungan lembab untuk membantu meningkatkan produksi jaringan baru dan menghancurkan jaringan yang rusak atau mati pada area luka sehingga menjanjikan untuk diaplikasikan sebagai pembalut luka. Kinerja hidrogel ditentukan dari sifat-sifat polimer yaitu biokompatibilitas, biodegradabilitas dan bioadhesif. Biokompatibilitas merupakan persyaratan penting untuk mempertahankan jaringan dengan menghadirkan polimer yang sesuai tanpa merusak jaringan lokal selama

penyembuhan luka. Biodegradabilitas pada hidrogel sangat penting selama perbaikan dan regenerasi jaringan terutama pada luka yang lebih dalam. Bioadhesif memfasilitasi hidrogel menempel pada luka yang basah dan memberikan fleksibilitas pada hidrogel sehingga memberikan kenyamanan pada pasien (Firlar *et al.*, 2022).

II.3 Mekanisme Pelepasan Obat

Pelepasan obat dapat diatur dengan menentukan polimer yang sesuai dengan sediaan yang dikehendaki. Mekanisme pelepasan obat dari polimer dengan cara difusi, degradasi dan pembengkakan. Pelepasan obat secara difusi ketika zat aktif berpindah dari polimer ke lingkungan eksternal. Saat terjadi pelepasan, pelepasan zat aktif akan melambat dikarenakan jarak zat aktif yang semakin jauh untuk melakukan perjalanan sehingga dibutuhkan waktu difusi yang semakin lama untuk melepaskan zat aktif. Pada sistem ini, penggunaan polimer yang dipilih harus membantu zat aktif berdifusi melalui pori-pori ke dalam lingkungan eksternal tanpa adanya perubahan yang terjadi pada polimer itu sendiri. Selanjutnya, sistem degradasi, dimana polimer *biodegradable* mengalami degradasi di dalam tubuh yang merupakan hasil dari proses biologis alami setelah terjadi pelepasan zat aktif. Pada umumnya, polimer *biodegradable* dibuat untuk terdegradasi yang disebabkan karena hidrolisis rantai polimer menjadi senyawa sehingga dapat diterima secara biologis. Dan pada sistem pembengkakan, pada sediaan yang awalnya kering dan saat diletakkan pada tubuh akan

menyerap cairan tubuh sehingga membuat sediaan membengkak. Proses pembengkakan pada sediaan akan meningkatkan kandungan pelarut berair pada sediaan yang membantu zat berdifusi melalui jaringan yang bengkak ke lingkungan luar (Kaur *et al.*, 2014).

II.4 Stabilitas Obat

Stabilitas obat adalah kemampuan yang dimiliki oleh suatu obat dalam mempertahankan sifat dan karakteristik yang ada pada saat proses pembuatan (identitas, kekuatan, kualitas dan kemurnian) dalam batasan yang ditetapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan (Joshita, 2008). Stabilitas obat dapat berdampak pada efektivitas, keamanan serta mutu obat sehingga hal ini perlu dicermati dengan baik. Kategori obat yang stabil ditentukan oleh kadar yang tidak berkurang pada saat proses penyimpanan. dikatakan stabil jika kadarnya tidak menurun dalam penyimpanan. Jika obat tercemar mikroba dan mengalami perubahan pada warna, bau dan bentuk maka obat tersebut dikategorikan tidak stabil (Fitriani, 2015).

Adapun faktor yang dapat mempengaruhi stabilitas obat yaitu oksigen, suhu dan pH. Oksigen berpengaruh terhadap kestabilan obat karena reaksi oksidasi yang diakibatkan oleh oksigen dapat mendegradasi obat. Selain itu, faktor lain yang juga berpengaruh terhadap kestabilan obat adalah pH. pH mampu mempengaruhi dekomposisi obat, ketika proses penambahan asam atau basa mampu mengakibatkan percepatan penguraian obat dan

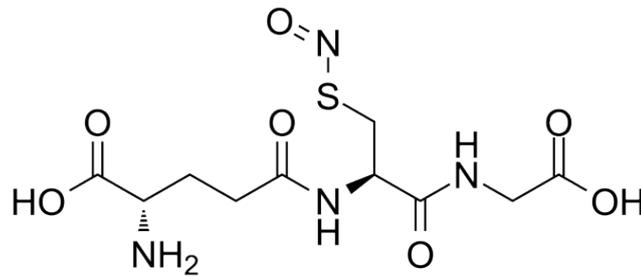
berakibat pada ketidakstabilan obat. Faktor lainnya yaitu suhu, suhu yang tinggi dapat mempengaruhi dan mempercepat semua reaksi kimia dan menyebabkan stabilitas obat menjadi berkurang (Gokani *et al.*, 2012). World Health Organization (WHO) dan *International Conference on Harmonization* (ICH) merekomendasikan pengujian stabilitas pada tiga suhu yaitu suhu beku (-20°C dan -10°C), suhu dingin (2°C - 8°C) dan suhu kamar (15°C - 30°C) (Depkes RI, 2020).

II.5 Uraian Bahan

II.5.1 S-Nitrosoglutathione (GSNO)

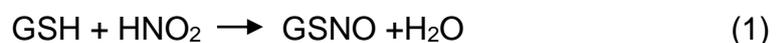
GSNO ($\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}$) memiliki bobot molekul 336,2 g/mol dan merupakan salah satu donor nitrit oksida (NO) yang banyak digunakan sebagai sarana untuk melepaskan NO. Nitrit oksida merupakan molekul gas endogen yang dihasilkan dari arginin oleh nitrat oksida sintase. NO terlibat dalam beberapa proses fisiologis seperti vasodilatasi dan neurotransmisi. Selain itu, NO menunjukkan aktivitas antibakteri dengan spektrum luas terhadap bakteri Gram-negatif dan Gram-positif maupun terhadap *Methicillin-resistant S. aureus* (MRSA) dengan merusak sel bakteri, protein dan DNA sehingga mengakibatkan kematian sel bakteri. Namun, NO hanya mempunyai waktu paruh yang singkat yaitu 3-4 detik yang membatasi dalam aplikasi klinisnya sehingga dibutuhkan donor NO eksogen (Qian *et al.*, 2022; Cao *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh

Pelegrino *et al.*, (2018), GSNO memiliki konsentrasi hambat minimum senilai 0,5%.



Gambar 2. Struktur GSNO (Jahnová *et al.*, 2019)

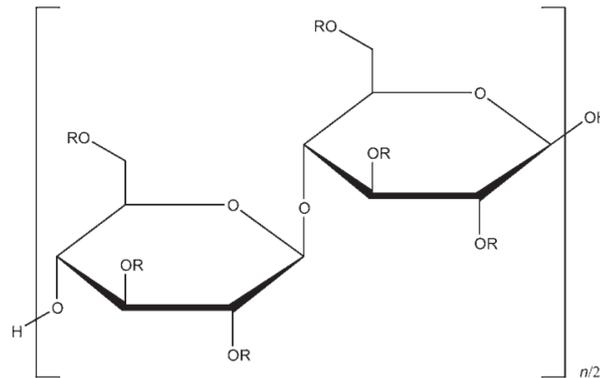
GSNO merupakan donor NO eksogen yang paling banyak digunakan karena sifatnya yang biokompatibel dan mudah dimurnikan dengan pengendapan dan pengeringan yang membuatnya relatif stabil jika dibandingkan dengan donor NO lainnya (Cisneros *et al.*, 2021). GSNO dapat disintesis dari reaksi antara glutation (GSH) dan nitrit dalam suasana asam. Proses dari reaksi ini lebih efisien dan cepat dimana pencampuran GSH dengan nitrit dalam suasana asam akan membentuk warna merah muda dan dapat diendapkan serta dimurnikan sebagai padatan. Adapun persamaan reaksi dari sintesis GSNO yaitu (Broniowska *et al.*, 2013).



GSNO yang berada di lingkungan asam pada kulit yang disebabkan oleh luka akan mendorong GSNO untuk melepaskan NO (Hornyak *et al.*, 2011; Poh and Rice, 2022). GSNO mudah larut dalam air sehingga aplikasi

GSNO secara topikal dan terlokasi cocok untuk matriks hidrofilik (Militão *et al.*, 2016).

II.5.2 Hidroksi Propil Metil Selulosa (HPMC)

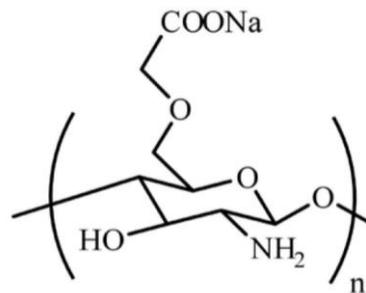


Gambar 3. Struktur HPMC (Rowe *et al.*, 2009)

HPMC merupakan turunan dari metilselulosa berupa serbuk granul atau berserat, warna putih atau putih krem, tidak memiliki bau dan tidak berasa (Rowe *et al.*, 2009). HPMC relatif stabil dalam asam dan basa dan memberikan stabilitas viskositas yang baik pada pH 3-11 pada masa penyimpanan. HPMC memiliki karakteristik yang baik, toksisitas rendah, tidak menyebabkan iritasi dan bersifat biokompatibel (Rençber *et al.*, 2017). HPMC dikembangkan dalam aquadest kemudian didiamkan dalam waktu 30-60 menit dan disimpan pada suhu rendah untuk membentuk gel. Mekanisme pembentuk gel pada senyawa ini karena adanya penggabungan antarmolekul polimer sehingga menyebabkan jarak antar partikel menjadi kecil dan terbentuk ikatan silang antarmolekul yang menyebabkan berkurangnya mobilitas pelarut sehingga terbentuk massa

gel (Erawati *et al.*, 2005). HPMC merupakan polimer hidrofilik yang merupakan agen yang dapat mengontrol pelepasan obat (Amjad, 2011).

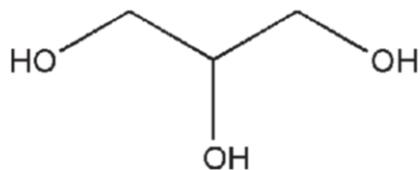
II.5.3 Karboksi Metil Kitosan (CMCS)



Gambar 4. Struktur CMCS (Kłosiński *et al.*, 2023)

CMCS merupakan salah satu derivat dari kitosan yang diperoleh dengan cara substitusi gugus karboksimetil pada rantai glukosamin pada struktur kitosan. Senyawa ini memiliki kelarutan yang lebih tinggi dalam air dibandingkan dengan kitosan karena memiliki gugus karboksimetil sehingga memperluas penggunaannya dalam berbagai aplikasi. Selain itu, hal yang membuat CMCS dalam air yaitu karena memiliki ikatan -H antara air dan polimer dan adanya COO⁻ pada rantainya. CMCS juga memiliki sifat seperti biokompatibilitas, biodegradabilitas dan toksisitas rendah. CMCS juga dalam digunakan sebagai agen penyerapan-retensi kelembaban dan digunakan dalam pengiriman pelepasan obat secara terkontrol (Jimtaisong and Saewan, 2014). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sari *et al.*, (2015), CMCS merupakan polimer dengan sifat mukoadhesif pada konsentrasi 0,25 -0,5%.

II.5.4 Gliserin



Gambar 5. Struktur gliserin (Rowe *et al.*, 2009)

Gliserin merupakan cairan higroskopis yang jernih, tidak berbau, kental dan larut dalam air. Gliserin berfungsi sebagai agen *plasticizer* (Rowe *et al.*, 2009). Gliserin merupakan molekul hidrofilik dengan berat molekul rendah sehingga mudah masuk ke dalam rantai protein dan dapat menyusun ikatan hidrogen dengan gugus reaktif protein sehingga cocok digunakan sebagai *plasticizer* yang dapat meningkatkan elastisitas dan kekuatan mekanik pada hidrogel (Galietta *et al.*, 1998; Kartika *et al.*, 2015). Penambahan gliserin pada sediaan topikal sebagai *plasticizer* dapat digunakan konsentrasi 1-5% (Damat, 2008).