

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI SISTEM
HIDROGEL DOKSISIKLIN HIKLAT BERBASIS
TAUTAN SILANG KITOSAN-ASAM HIALURONAT**

**FORMULATION AND CHARACTERIZATION OF
DOXYCYCLINE HYCLATE HYDROGEL SYSTEM
BASED ON CHITOSAN-HYALURONIC ACID
CROSSLINK**

**KOMANG AGUS RAI ARDIKA
N011191120**



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

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI SISTEM HIDROGEL DOKSISIKLIN
HIKLAT BERBASIS TAUTAN SILANG KITOSAN-ASAM HIALURONAT**

**FORMULATION AND CHARACTERIZATION OF DOXYCYCLINE
HYCLATE HYDROGEL SYSTEM BASED ON CHITOSAN-HYALURONIC
ACID CROSSLINK**

SKRIPSI

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

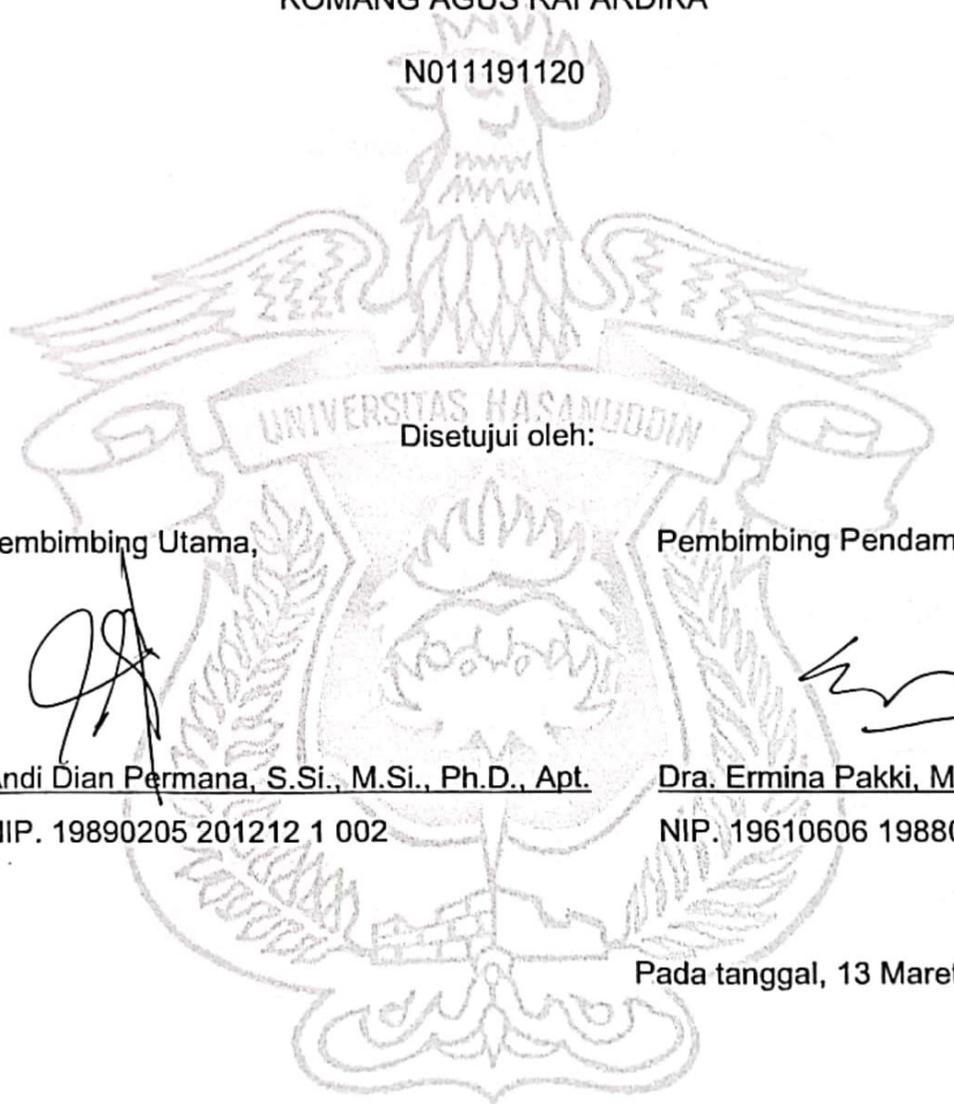
**KOMANG AGUS RAI ARDIKA
N011191120**

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

FORMULASI DAN KARAKTERISASI SISTEM HIDROGEL DOKSISIKLIN
HIKLAT BERBASIS TAUTAN SILANG KITOSAN-ASAM HIALURONAT

KOMANG AGUS RAI ARDIKA

N011191120



Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'ADP', written over the text of the main supervisor.

Andi Dian Permana, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt.
NIP. 19890205 201212 1 002

Pembimbing Pendamping,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'EP', written over the text of the co-supervisor.

Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt.
NIP. 19610606 198803 2 002

Pada tanggal, 13 Maret 2023

SKRIPSI

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI SISTEM HIDROGEL DOKSISIKLIN
HIKLAT BERBASIS TAUTAN SILANG KITOSAN-ASAM HIALURONAT**

**FORMULATION AND CHARACTERIZATION OF DOXYCYCLINE
HYCLATE HYDROGEL SYSTEM BASED ON CHITOSAN-HYALURONIC
ACID CROSSLINK**

Disusun dan diajukan oleh:

**KOMANG AGUS RAI ARDIKA
N011191120**

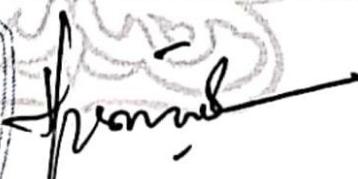
telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 10 Maret 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Pembimbing Utama, **Menyetujui,** Pembimbing Pendamping,


Andi Dian Permana, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt.
NIP. 19890205 201212 1 002


Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt.
NIP. 19610606 198803 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

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Komang Agus Rai Ardika
NIM : N011191120
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi dengan judul "Formulasi dan Karakterisasi Sistem Hidrogel Doksisisiklin Hiklat Berbasis Tautan Silang Kitosan-Asam Hialuronat" adalah asli karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dengan sebenar-benarnya.

Makassar, 13 Maret 2023

Yang menyatakan,



Komang Agus Rai Ardika
N011191120

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, sumber segala ilmu pengetahuan, atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik, sebagai persyaratan untuk menyelesaikan pendidikan dan memperoleh gelar sarjana pada program studi Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis memahami bahwa setiap proses pengerjaan skripsi ini tidak mudah, banyak rintangan dan tantangan yang harus dihadapi, namun berkat dukungan dan bantuan berbagai pihak, akhirnya penulis dapat mengatasi hal tersebut. Oleh karena itu, penulis dengan tulus dan ikhlas menghaturkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Andi Dian Permana, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. dan Ibu Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu dan tenaganya untuk selalu memberikan bimbingan, arahan, kritik dan saran, serta bantuan kepada penulis selama proses penelitian dan pengerjaan skripsi berlangsung, yang mana juga senantiasa dalam memberikan pengalaman inspiratif beliau kepada penulis agar dapat menyelesaikan masalah secara logis dan menjalani setiap proses yang dilalui dengan semangat pantang menyerah.
2. Ibu Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. dan Bapak Muh. Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt., selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu dan tenaganya untuk memberikan tanggapan,

masukkan, kritik dan saran secara konstruktif dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

3. Bapak Abdul Rahim, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt., selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan nasihat dan arahan, serta berperan selayaknya orang tua penulis di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin selama menempuh pendidikan sarjana.
4. Kedua orang tua penulis, Bapak I Ketut Duwasa dan Ibu Ni Ketut Masri, serta saudara dan keluarga, yang tidak henti-hentinya memberikan doa, dukungan, dan semangat kepada penulis selama menempuh pendidikan sarjana di program studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, sedari awal hingga akhir.
5. Dekan dan para Wakil Dekan, serta seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, yang telah memberikan sarana dan prasarana pendidikan, fasilitas yang memadai, serta ilmu dan segala bantuan kepada penulis selama menempuh pendidikan sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
6. Teman-teman Bau Obat/DEX19EN yang telah membersamai perjalanan penulis, memberikan dukungan dan semangat, serta pengalaman berharga selama menempuh pendidikan sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
7. Teman-teman Gelombang 1 Bimbingan Kak Dian dan SKRIPSIAN, yang telah menjadi penyemangat penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi.

8. Teman-teman KKN UNHAS Gel. 108 Desa Wisata Maros, Kec. Maros Baru 2, khususnya Posko 1 Desa Majannang, yang telah memberikan pengalaman berharga selama kurang lebih 2 bulan mengabdikan kepada masyarakat, serta dukungan dan semangat dalam penyusunan skripsi.
9. Rekan-rekan Korps. Asisten Farmakognosi-Fitokimia dan UKM CRITIS KEMAFAR-UH, yang selalu menjadi wadah diskusi dan menumbuhkembangkan jiwa berorganisasi selama menempuh pendidikan sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
10. Semua pihak yang telah membantu yang tidak sempat disebutkan namanya satu-persatu.

Penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan sumbangsih ilmu pengetahuan, khususnya di bidang Farmasi, dan dapat dijadikan sebagai acuan dalam melakukan penelitian selanjutnya.

Makassar, 13 Maret 2023

Komang Agus Rai Ardika

ABSTRAK

KOMANG AGUS RAI ARDIKA. *Formulasi dan Karakterisasi Sistem Hidrogel Doksisisiklin Hiklat Berbasis Tautan Silang Kitosan-Asam Hialuronat* (dibimbing oleh Andi Dian Permana dan Ermina Pakki).

Ulkus kaki diabetik (UKD) adalah komplikasi utama penderita diabetes berupa luka kronis pada tungkai kaki. UKD menjadi tantangan bagi sistem perawatan kesehatan di seluruh dunia karena rentan terhadap infeksi mikroorganisme dan inflamasi yang berkepanjangan. Salah satu lini pertama pengobatan penyakit ini secara klinis yaitu pemberian doksisisiklin hiklat (Doxy). Namun, ketersediaan Doxy dalam bentuk tablet, kapsul, dan sediaan topikal konvensional mengurangi efektivitas terapinya dalam jangka panjang, berkaitan erat dengan efek samping pada gastrointestinal dan rasa nyeri selama perawatan, serta pelepasan obat yang tidak terkontrol pada lokasi luka. Pada penelitian ini, desain sediaan topikal Doxy berupa hidrogel pH-responsif dikembangkan untuk mengatasi hal tersebut. Sistem hidrogel Doxy dibuat dengan basis campuran karboksimetil kitosan (KK) dan aldehida asam hialuronat (AAH) melalui ikatan silang basa Schiff. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi kombinasi KK dan AAH terhadap karakteristik dan profil pelepasan Doxy secara *in vitro* pada formulasi hidrogel. Terdapat 3 formula hidrogel Doxy yang dikembangkan dengan perbandingan konsentrasi kombinasi KK dan AAH, yaitu F1 (3%:7%), F2 (5%:5%), dan F3 (7%:3%). Pengujian organoleptis, pH, viskositas, tipe aliran, sifat keterbasahan, dan profil pelepasan obat secara *in vitro* dilakukan untuk evaluasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi konsentrasi kombinasi KK dan AAH mempengaruhi karakteristik dan profil pelepasan hidrogel Doxy. Peningkatan konsentrasi KK dan penurunan konsentrasi AAH menghasilkan peningkatan transparansi, pH dan viskositas, serta penurunan sifat hidrofilitas dan profil pelepasan hidrogel Doxy. Lebih dari 90% Doxy dilepaskan dari setiap formula hidrogel dalam interval waktu 24 jam ($p < 0,05$). Selanjutnya, F2 telah dipilih sebagai formula optimal pada penelitian ini karena dapat memberikan karakteristik fisiko-kimia yang baik. Berdasarkan parameter kinetika pelepasannya, F2 mampu menyediakan pelepasan Doxy secara terkontrol melalui mekanisme difusi Fick dalam model Korsmeyer-Peppas ($n < 0,45$).

Kata Kunci: Ulkus Kaki Diabetik, Hidrogel, Doksisisiklin Hiklat, Kitosan, Asam Hialuronat

ABSTRACT

KOMANG AGUS RAI ARDIKA. *Formulation and Characterization of Doxycycline Hyclate Hydrogel System Based on Chitosan-Hyaluronic Acid Crosslink* (supervised by Andi Dian Permana and Ermina Pakki).

Diabetic foot ulcers (DFU) are the major complication associated with diabetic sufferers as a form of chronic wounds on the legs and pose a challenge to healthcare system worldwide due to their high susceptibility to microbial infection and prolonged inflammation. One of the drugs used as the first-line therapy for DFU is doxycycline hyclate (Doxy). Unfortunately, the long-term availability of Doxy in the form of tablets, capsules, and conventional topical formulations reduces its therapeutic efficacy, closely related to side effects on gastrointestinal and acute pain during treatment, as well as uncontrolled drug release at the wound site. Therefore, in this study, the new design of Doxy topical dosage form was developed into pH-responsive hydrogel. The Doxy hydrogel system was prepared on the combination bases of carboxymethyl chitosan (CC) and aldehyde hyaluronic acid (AHA) via Schiff base reaction. This study aimed to determine the effects of varying concentrations of CC and AHA on the characteristics and release profile of Doxy in hydrogel formulations. Three hydrogel formulations were developed with a ratio of CC and AHA concentrations, namely F1 (3%:7%), F2 (5%:5%), and F3 (7%:3%). The evaluation of organoleptic, pH, viscosity, flow type, wettability, and *in vitro* drug release showed that variations in CC and AHA concentrations affected the characteristics and release profile of Doxy from hydrogels. Increasing the concentration of CC and decreasing the concentration of AHA could increase the transparency, pH, and viscosity, as well as decrease the surface hydrophilicity and drug release profile in Doxy hydrogels. The *in vitro* release study showed that up to 90% Doxy were release from hydrogels after 24 h ($p < 0.05$). Considering the physico-chemical properties, F2 was selected as the optimum formulation. Additionally, the release kinetic study performed that F2 provide the controlled release of Doxy via Fickian diffusion mechanism in Korsmeyer-Peppas model ($n < 0,45$).

Keywords: Diabetic Foot Ulcers, Hydrogel, Doxycycline Hyclate, Chitosan, Hyaluronic Acid

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
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 Penyakit Ulkus Kaki Diabetik	5
II.2 Hidrogel Berbasis Ikatan Basa Schiff	16
II.3 Doksisisiklin Hiklat	19
II.4 Karboksimetil Kitosan dan Aldehida Asam Hialuronat	21
III. METODE PENELITIAN	25
III.1 Alat dan Bahan	25
III.2 Cara Kerja	25
III.3 Pengumpulan dan Analisis Data	29

III.4 Pembahasan Hasil dan Penarikan Kesimpulan	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	31
IV.1 Karakteristik Hidrogel Doksisisiklin Hiklat	32
IV.2 Profil Pelepasan Hidrogel Doksisisiklin Hiklat Secara <i>In Vitro</i>	37
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	41
V.1 Kesimpulan	41
V.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rancangan formula hidrogel doksisisiklin hiklat	26
2. Parameter kinetika pelepasan doksisisiklin hiklat dari F2	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur anatomi kulit	5
2. Proses penyembuhan luka	9
3. Ilustrasi ulkus kaki diabetik	13
4. Mekanisme pembentukan ikatan basa Schiff	18
5. Struktur kimia doksisisiklin hiklat	19
6. Target molekul doksisisiklin hiklat sebagai antiinflamasi	20
7. Reaksi pembentukan karboksimetil kitosan	22
8. Reaksi pembentukan aldehida asam hialuronat	23
9. Reaksi pembentukan ikatan basa Schiff antara karboksimetil kitosan dan aldehida asam hialuronat	23
10. Ilustrasi penggunaan hidrogel dari kombinasi karboksimetil kitosan dan aldehida asam hialuronat	24
11. Ilustrasi uji pelepasan hidrogel doksisisiklin hiklat secara <i>in vitro</i>	28
12. Hidrogel doksisisiklin hiklat	32
13. Diagram hasil pengukuran pH	33
14. Diagram hasil pengukuran viskositas	34
15. Grafik hasil penentuan tipe aliran	35
16. Hasil uji keterbasahan	36
17. Grafik hasil uji pelepasan obat	38
18. Panjang gelombang maksimum doksisisiklin hiklat dalam PBS pH 7,4	51

19. Kurva baku doksisisiklin hiklat dalam PBS pH 7,4	51
20. Analisis doksisisiklin hiklat dengan spektrofotometer UV-Vis	68
21. Formulasi dan karakterisasi hidrogel doksisisiklin hiklat	68

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja penelitian	50
2. Panjang gelombang maksimum dan kurva baku	51
3. Perhitungan	52
4. Tabel hasil penelitian	53
5. Data hasil analisis statistika	60
6. Dokumentasi penelitian	68

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

International Diabetes Federation melaporkan terjadinya peningkatan jumlah penderita diabetes di Indonesia mencapai 10,7 juta pada tahun 2019 (Hidayat *et al.*, 2022). Sekitar 15-30% dari penderita diabetes tersebut berisiko mengalami ulkus kaki diabetik (UKD) (Bai *et al.*, 2020; Chang and Nguyen, 2021). UKD adalah komplikasi serius dari penyakit diabetes berupa luka kronis pada kaki yang sulit disembuhkan (Shiekh, Singh and Kumar, 2020). Hal ini terjadi karena UKD mengalami fase inflamasi yang berkepanjangan, ditandai dengan meningkatnya produksi sitokin proinflamasi dan matriks metalloprotease (MMP). Selain itu, UKD juga rentan terhadap infeksi mikroorganisme (Cui *et al.*, 2019; Chang and Nguyen, 2021). Lebih dari 35% infeksi pada UKD disebabkan oleh strain *Staphylococcus aureus* (Permana *et al.*, 2020; Chang and Nguyen, 2021; Fernández-Grajera *et al.*, 2022). Infeksi *S. aureus* tersebut menginduksi pengasaman lokal yang bersifat abnormal dalam keadaan hiperglikemik, sehingga menyebabkan agregasi dan peningkatan faktor virulensinya (Luo *et al.*, 2019; Kvich *et al.*, 2022).

Secara klinis, pemberian doksisisiklin hiklat (Doxy) merupakan salah satu lini pertama pengobatan UKD yang terinfeksi *S. aureus* (Chang and Nguyen, 2021). Doxy adalah turunan semi-sintetik dari tetrasiklin yang telah disetujui penggunaannya oleh Food and Drug Administration sebagai agen inhibitor sintesis protein bakteri yang efektif (Inamuddin *et al.*, 2018; Aliyah *et al.*, 2021).

Berdasarkan penelitian Borse, Gangude and Deore (2020), Doxy memiliki zona hambat sekitar $13,66 \pm 1,69$ mm sampai $32,00 \pm 1,63$ mm terhadap *S. aureus*. Doxy juga memiliki beberapa aktivitas antiinflamasi, di antaranya sebagai penghambat sitokin proinflamasi dan MMP (Henehan, Montuno and De Benedetto, 2017; Cui *et al.*, 2019). Saat ini, Doxy telah beredar di pasaran dalam bentuk sediaan oral tablet dan kapsul, tetapi efektivitas penggunaannya cukup menurun dalam beberapa tahun terakhir. Pemberian jangka panjang obat tersebut dilaporkan dapat menyebabkan efek samping serius pada gastrointestinal (Laturkar *et al.*, 2021). Penelitian Gabriele *et al.* (2019) juga melaporkan bahwa konsentrasi Doxy yang diberikan secara oral tidak cukup untuk menghambat aktivitas MMP. Konsentrasi yang cukup ditemukan pada pemberian sediaan topikal konvensional Doxy 1%. Meskipun demikian, pelepasan Doxy dari sediaan topikal konvensional ini sulit dikontrol dan iritasi kulit dapat terjadi, sehingga mengurangi frekuensi penggunaannya (Cui *et al.*, 2019). Untuk itu, desain sediaan topikal Doxy sebagai pembalut luka perlu dikembangkan lebih lanjut untuk mengatasi permasalahan tersebut.

Hidrogel merupakan salah satu alternatif bahan pembalut luka yang paling banyak dikembangkan saat ini (Khan *et al.*, 2021; Güiza-Argüello *et al.*, 2022). Hidrogel dapat melembabkan dan mendinginkan permukaan luka, sehingga mengurangi rasa nyeri pada pasien selama perawatan berlangsung (He *et al.*, 2020). Selain itu, hidrogel juga dapat dimodifikasi untuk merespon rangsangan fisiologis, seperti suhu, pH dan kekuatan ionik agar dapat menghasilkan pelepasan antibiotik yang sesuai (Kamoun, Kenawy and Chen,

2017; C. Hu *et al.*, 2021). Penelitian Albright *et al.* (2017) melaporkan bahwa hidrogel yang bersifat responsif terhadap pH dapat memediasi pelepasan obat secara terkontrol dalam kondisi pengasaman lokal yang diinduksi oleh *S. aureus*.

Pengembangan sistem hidrogel pH-responsif tersebut dapat dilakukan melalui teknik pautan silang kimia berupa ikatan basa Schiff (Xu, Liu and Hsu, 2019). Polimer yang saat ini banyak dikembangkan sebagai prekursor pembentuk sistem hidrogel tersebut, yaitu kitosan dan asam hialuronat karena biokompatibilitas dan biodegradabilitasnya yang baik (Xia *et al.*, 2021). Kitosan juga dilaporkan memiliki kemampuan antibakteri, *tissue-adhesive*, dan hemostasis, tetapi kelarutannya yang buruk dalam kondisi fisiologis membatasi penggunaannya, sehingga sering dimodifikasi menjadi karboksimetil kitosan (KK) (W. Huang *et al.*, 2018; Puertas-Bartolomé *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020). Di sisi lain, asam hialuronat juga banyak dikembangkan karena dapat menginduksi angiogenesis dan memberikan kapasitas gelasi serta retensi air yang baik. Polimer ini biasanya dimodifikasi dalam bentuk aldehida asam hialuronat (AAH) agar dapat memperbaiki sifat mekanik hidrogel yang dihasilkan (Li *et al.*, 2014; Deng *et al.*, 2017; Nguyen *et al.*, 2019). Hidrogel pH-responsif selanjutnya diperoleh dari kombinasi KK dan AAH tersebut melalui pembentukan ikatan basa Schiff antara gugus amina (-NH₂) pada KK dengan gugus aldehyd (-CHO) pada AAH (Zhuang *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2021). Hingga saat ini, banyak penelitian yang telah melaporkan keberhasilan penggunaan sistem hidrogel dari kombinasi polimer tersebut

pada penyembuhan luka yang terinfeksi (J. Huang *et al.*, 2018). Namun, pengembangan sistem hidrogel tersebut untuk UKD terbilang masih baru dan penggunaan Doxy belum pernah diteliti sebelumnya. Oleh karena itu, pengembangan sistem hidrogel Doxy berbasis kombinasi polimer tersebut perlu dilakukan untuk meningkatkan efikasi terapinya pada penyembuhan UKD.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, terdapat beberapa rumusan masalah dalam penelitian ini, yaitu:

1. Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi kombinasi KK dan AAH terhadap karakteristik hidrogel Doxy?
2. Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi KK dan AAH terhadap profil pelepasan Doxy dari hidrogel secara *in vitro*?
3. Berapakah konsentrasi kombinasi KK dan AAH yang menghasilkan formula hidrogel Doxy yang optimal?

I.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini, yaitu:

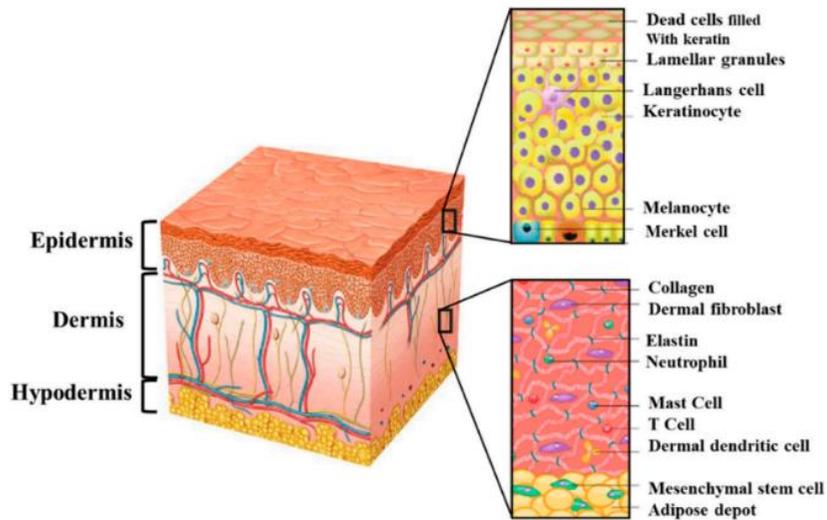
1. Untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi kombinasi KK dan AAH terhadap karakteristik hidrogel Doxy.
2. Untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi kombinasi KK dan AAH terhadap profil pelepasan Doxy dari hidrogel secara *in vitro*.
3. Untuk mengetahui konsentrasi kombinasi KK dan AAH yang menghasilkan formula hidrogel Doxy yang optimal.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Penyakit Ulkus Kaki Diabetik

II.1.1 Kulit



Gambar 1. Struktur Anatomi Kulit (Tavakoli and Klar, 2020)

Kulit adalah organ tubuh dengan luas permukaan mencapai 2 m² dan beratnya lebih dari 10% dari berat total badan orang dewasa (Kamoun, Kenawy and Chen, 2017; Khan *et al.*, 2021). Kulit berfungsi sebagai sistem pertahanan luar utama, melindungi bagian dalam tubuh dari agen fisik, kimia, dan biologis eksternal, termasuk infeksi oleh mikroorganisme seperti bakteri (Alkilani, McCrudden and Donnelly, 2015; Simões *et al.*, 2018; He *et al.*, 2020; Tavakoli and Klar, 2020). Selain itu, kulit juga berperan sebagai organ sensorik terhadap rangsangan dari luar dan mempertahankan kondisi homeostasis tubuh, seperti mencegah dehidrasi dan mengatur suhu tubuh (Nguyen *et al.*, 2019; He *et al.*, 2020). Pada kondisi normal, kulit bersifat sedikit asam (pH 4,5-6,8) dan tersusun atas 3 lapisan utama, yaitu epidermis, dermis, dan

hipodermis (Alkilani, McCrudden and Donnelly, 2015; Kamoun, Kenawy and Chen, 2017; Hedayatyanfard *et al.*, 2020; Tavakoli and Klar, 2020; Sim *et al.*, 2022).

1. Epidermis

Epidermis adalah lapisan atas kulit yang sebagian besar terdiri dari keratinosit (95%), berfungsi untuk membangun penghalang utama terhadap penetrasi perkutan dari serangan luar. Lapisan ini memiliki ketebalan sekitar 0,8 mm pada telapak tangan dan telapak kaki. Selain keratinosit, epidermis juga terdiri dari sel melanosit yang menghasilkan pigmen untuk kulit, sel Langerhans berperan sebagai antigen bagi sistem kekebalan tubuh, dan sel Merkel yang berfungsi sebagai mekanoreseptor bersama dengan neuron sensorik. Lapisan atas ini secara kontinu terus diperbarui, dimana keratinosit basal terus berkembang biak untuk membangun kembali epidermis yang rusak. Berbagai sel induk basal membelah untuk menghasilkan sekelompok sel yang mengalami penghentian siklus sel dan mulai bermigrasi ke permukaan kulit. Selama migrasi ini, empat lapisan epidermis yang berbeda terbentuk, yaitu lapisan paling dalam adalah lapisan basal (*stratum basale*), yang diikuti oleh lapisan sel berduri (*stratum spinosum*), lapisan granular (*stratum granulosum*), dan lapisan tanduk (*stratum korneum*) sebagai lapisan paling luar. Sel-sel *stratum korneum* terutama terdiri dari keratin yang tidak larut (70%) dan lipid (20%). Dalam proses ini, keratinosit akhirnya kehilangan nukleusnya dan mengalami kematian sel terprogram yang disebut sebagai diferensiasi terminal. Epidermis dipisahkan dari dermis oleh persimpangan

dermal-epidermal. Persimpangan ini dibuat oleh membran basal yang menahan keratinosit di epidermis. Membran basal adalah struktur matriks ekstraseluler khusus yang mengandung berbagai protein seperti laminin, nidogen, kolagen tipe IV dan VII, proteoglikan, perlecan, dan kolagen XVIII. Selain itu, juga mengandung kolagen tipe I dan III, tenaskin, dan fibrillin-1. Keratinosit yang ada di epidermis dan fibroblas dari dermis di bawahnya berkontribusi pada pembentukan membran basal (Alkilani, McCrudden and Donnelly, 2015; Kamoun, Kenawy and Chen, 2017; Tavakoli and Klar, 2020).

2. Dermis

Dermis adalah lapisan kulit paling tebal (1,5-4 mm) yang terletak di bawah epidermis dan terdiri dari matriks jaringan ikat yang memberikan elastisitas kulit dan ketahanan terhadap deformasi. Lapisan ini tersusun atas fibroblas sebagai sel utama yang berperan dalam pembentukan kolagen dan elastin. Sel penting lainnya dalam dermis, yaitu *human dermal microvascular endothelial cells* (HDMECs), perisit, dan sel mast. Secara struktural, dermis terbagi menjadi dua lapisan, yaitu lapisan papiler dan retikuler. Dermis papiler terdiri dari jaringan ikat longgar dan mengandung banyak pembuluh darah, sedangkan dermis retikuler terletak di bawah dermis papiler yang mengandung serat kolagen dan elastin yang tebal. Selain itu, dermis juga mengandung kelenjar keringat, serta folikel rambut, kelenjar sebacea, dan ujung saraf. Lapisan ini mengandung jaringan saraf, darah, dan pembuluh getah bening yang kaya untuk menyediakan oksigen (Alkilani, McCrudden and Donnelly, 2015; Kamoun, Kenawy and Chen, 2017; Tavakoli and Klar, 2020).

3. Hipodermis

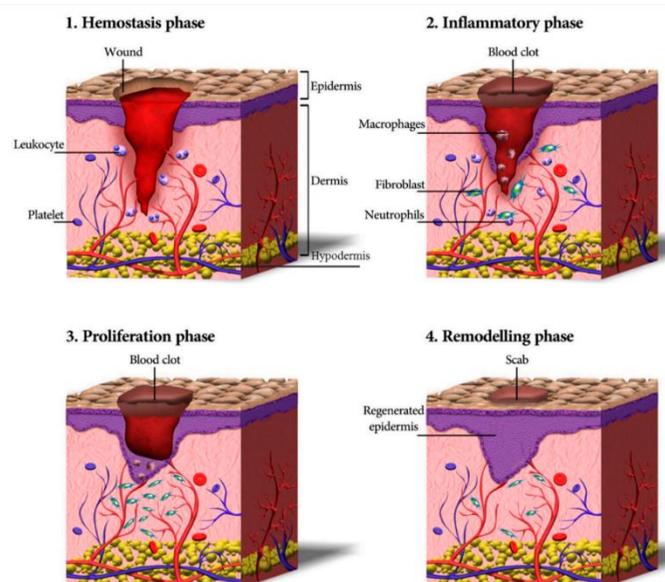
Hipodermis adalah lapisan kulit terdalam sebagai jaringan adiposa subkutan yang terletak di bawah dermis, terdiri dari lemak dan jaringan ikat. Lapisan ini berfungsi mengurangi kehilangan panas dari tubuh dengan menyediakan insulasi termal dan bantalan antara kulit dan struktur rangka. Lapisan ini juga kaya akan pembuluh darah dan getah bening, serta memiliki perluasan kelenjar keringat dan folikel rambut. Selain itu, hipodermis dianggap sebagai organ endokrin untuk tempat penyimpanan energi (Alkilani, McCrudden and Donnelly, 2015; Kamoun, Kenawy and Chen, 2017; Tavakoli and Klar, 2020).

II.1.2 Proses Penyembuhan Luka

Luka merupakan cedera atau kerusakan yang menyebabkan terputusnya kontinuitas struktur dan fungsi anatomi kulit (Nagoba *et al.*, 2015; Tavakoli and Klar, 2020). Berdasarkan waktu dan sifat proses perbaikannya, luka dapat dibagi menjadi 2 kategori, yaitu luka akut dan kronis. Luka akut adalah luka yang membutuhkan waktu sekitar 8-12 minggu untuk sembuh dan biasanya disebabkan oleh cedera mekanis (seperti luka bakar atau luka akibat gesekan antara kulit dengan permukaan benda yang kasar, keras, atau tajam) dan bahan kimia, sedangkan luka kronis diartikan sebagai luka pada kulit yang tertunda penyembuhannya lebih dari 12 minggu setelah cedera awal, dapat disebabkan oleh diabetes, luka yang terlalu kering dan adanya infeksi (Kamoun, Kenawy and Chen, 2017; Simões *et al.*, 2018; Tavakoli and Klar, 2020; Haller *et al.*, 2021). Berdasarkan etiologi penyebabnya, Wound Healing Society

mengklasifikasikan luka kronis menjadi empat kategori berbeda, yaitu ulkus tekan, ulkus diabetik, ulkus vena, dan ulkus dengan insufisiensi arteri. Secara garis besar, empat kategori luka kronis tersebut memiliki penyebab yang sama, seperti tingkat protease yang tidak teratur, sitokin proinflamasi yang meningkat, *reactive oxygen species* (ROS) yang persisten, adanya fibroblas tua, infeksi yang berkepanjangan, serta disfungsi dan jumlah sel punca yang tidak mencukupi (Simões *et al.*, 2018; Tavakoli and Klar, 2020).

Secara normal, proses penyembuhan luka pada kulit terjadi melalui 4 fase, yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi sel, dan *remodeling* jaringan seperti pada gambar 2.



Gambar 2. Proses Penyembuhan Luka (Tavakoli and Klar, 2020)

1. Hemostasis (pembekuan darah)

Dalam beberapa menit pertama setelah cedera, trombosit mulai berkumpul dan bergerak menuju ke lokasi luka. Saat kontak dengan kolagen, trombosit berubah menjadi bentuk amorf yang menyebabkan aktivasi dan agregasi. Trombin kemudian mulai diproduksi dan mengkatalisis inisiasi

kaskade koagulasi, yang mengarah ke aktivasi fibrin, membentuk jaring yang mencegah perdarahan lebih lanjut. Selain itu, trombosit memainkan peran penting dalam akumulasi leukosit dan inisiasi serta perkembangan inflamasi (Simões *et al.*, 2018; Tavakoli and Klar, 2020; Güiza-Argüello *et al.*, 2022).

2. Inflamasi (peradangan)

Fase peradangan ditandai dengan adanya pembengkakan dan kemerahan di sekitar luka. Pada tahap ini, sel imun (terutama neutrofil dan makrofag) direkrut ke dalam luka dan melepaskan berbagai sitokin proinflamasi, seperti interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6), *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- α), dan interferon gamma (IFN- γ), yang menginduksi fagositosis sel yang rusak dan mati, bakteri dan patogen atau zat pengotor lainnya. Selain itu, sel inflamasi bersama dengan trombosit melepaskan berbagai faktor pertumbuhan peptida, mendorong migrasi fibroblas ke lokasi luka dan mengaktifkan angiogenesis (Simões *et al.*, 2018; Tavakoli and Klar, 2020; Güiza-Argüello *et al.*, 2022).

3. Proliferasi sel

Selama fase proliferaatif, fibroblas dirangsang lebih lanjut untuk berkembang biak di area luka. Selanjutnya, komponen jaringan kulit disusun kembali, menghasilkan pembentukan jaringan granulasi dan pengendapan protein matriks ekstraseluler, terutama kolagen. Kemudian, peningkatan angiogenesis menginduksi pertumbuhan jaringan vaskular ke dalam jaringan granulasi untuk meningkatkan kelangsungan hidup sel dengan menyediakan oksigen dalam jumlah yang cukup. Setelah itu, sel-sel epitel bermigrasi dari

tepi luka untuk menutupi defek, proses ini dikenal sebagai re-epitelisasi (Simões *et al.*, 2018; Tavakoli and Klar, 2020; Güiza-Argüello *et al.*, 2022).

4. *Remodeling* jaringan

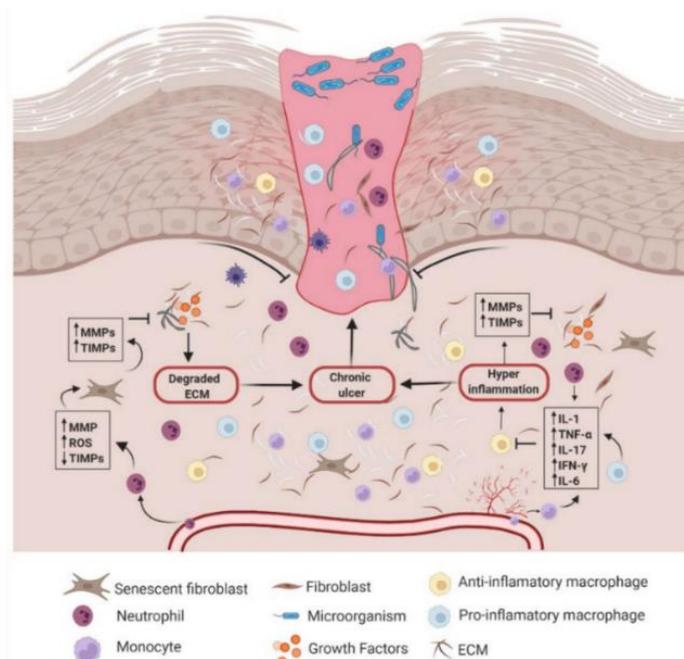
Pada fase akhir, serat kolagen berlebih di dermis dipecah dan kontraksi luka mencapai puncaknya. Sifat mekanis dari luka yang sembuh mencapai maksimumnya dan elastisitas bekas luka yang dihasilkan sekitar 80% (Simões *et al.*, 2018; Tavakoli and Klar, 2020).

Keempat proses penyembuhan tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor spesifik dan individual, seperti pola makan, usia pasien, penyakit dan kondisi luka (Kamoun, Kenawy and Chen, 2017). Kondisi luka adalah salah satu faktor yang diselidiki paling awal, khususnya pH luka yang erat kaitannya dengan perfusi lokal, tekanan oksigen, dan konsentrasi laktat (Haller *et al.*, 2021). Dalam keadaan sehat, pH fisiologis epidermis kulit manusia berkisar antara 4,5–5,3 dan menjadi 6,8 ketika mencapai *stratum korneum* yang lebih rendah. Akan tetapi, ketika terjadi luka, pH lingkungan mikro luka menjadi lebih basa, berada dalam kisaran 7,15-8,9; karena cedera yang terjadi biasanya mencapai dermis yang memiliki pH fisiologis 7,4 (Gethin, 2007; Jones, Cochrane and Percival, 2015; Sim *et al.*, 2022). Saat proses penyembuhan dimulai, mekanisme fisiologis secara alami mulai mengembalikan pH lingkungan mikro kulit ke keadaan asam (Nagoba *et al.*, 2015; Haller *et al.*, 2021; Sim *et al.*, 2022).

II.1.3 Luka Kronis – Ulkus Kaki Diabetik

Diabetes adalah penyakit metabolik kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah melebihi batas normal (hiperglikemia), berkisar antara 0,70-0,99 g/L. Penyakit ini dapat disebabkan oleh gangguan sekresi dan/atau fungsi insulin. International Diabetes Federation melaporkan bahwa setidaknya 463 juta orang di seluruh dunia menderita diabetes pada tahun 2019. Jumlah tersebut diperkirakan akan meningkat menjadi 578 juta pada tahun 2030 dan 700 juta pada tahun 2045. Indonesia berada di urutan ke-7 dari 10 negara dengan jumlah kasus terbanyak mencapai 10,7 juta pada tahun 2019. Pada tahun 2045, jumlah ini diperkirakan akan meningkat menjadi 16,6 juta (Infodatin, 2020; Fernández-Grajera *et al.*, 2022; Güiza-Argüello *et al.*, 2022; Hidayat *et al.*, 2022). Peningkatan kasus penyakit ini juga disertai sejumlah komplikasi terkait, antara lain penyakit kardiovaskular, kebutaan, gagal ginjal, dan ulkus pada kaki (Güiza-Argüello *et al.*, 2022).

Ulkus kaki diabetik (UKD) adalah komplikasi utama diabetes yang muncul sebagai luka kronis pada 15-30% penderita diabetes (Gabriele *et al.*, 2019; Malone-Povolny, Maloney and Schoenfisch, 2019; Bai *et al.*, 2020; Hedayatyanfard *et al.*, 2020; Chang and Nguyen, 2021). UKD biasanya terinfeksi bakteri yang menghambat penyembuhan luka dan menyebabkan amputasi ekstremitas bawah (Gabriele *et al.*, 2019; B. Hu *et al.*, 2021). Amputasi terjadi pada lebih dari 80% penderita diabetes dengan ulkus kaki yang terinfeksi (Malone-Povolny, Maloney and Schoenfisch, 2019).



Gambar 3. Ilustrasi Ulkus Kaki Diabetik (Güiza-Argüello *et al.*, 2022)

UKD juga ditandai dengan terhentinya proses penyembuhan luka pada fase tertentu akibat hiperglikemia yang menetap. Fase tersebut adalah inflamasi berkepanjangan yang disebabkan oleh disfungsi makrofag dan infiltrasi serta persistensi neutrofil di dasar luka, dimana hal tersebut menyebabkan terjadinya produksi sitokin proinflamasi dan protease secara berlebihan (Malone-Povolny, Maloney and Schoenfisch, 2019; Zhang *et al.*, 2020; B. Hu *et al.*, 2021).

Protease yang paling sering diekspresikan dalam ulkus kaki diabetik adalah matriks metalloprotease (MMP) (Gabriele *et al.*, 2019). MMP adalah endopeptidase multidomain kunci yang mengandung seng yang terlibat dalam berbagai proses biologis (Henehan, Montuno and De Benedetto, 2017). Meskipun terdapat 23 jenis MMP, aktivitas MMP-2 dan MMP-9 beberapa kali lebih tinggi pada luka yang tidak sembuh (Gabriele *et al.*, 2019;

Hedayatyanfard *et al.*, 2020; Chang and Nguyen, 2021). Selain MMP, produksi sitokin proinflamasi yang berlebihan juga menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat menimbulkan stres oksidatif dan menghasilkan berbagai efek merusak jaringan, seperti penurunan deposisi kolagen dan angiogenesis, penipisan matriks ekstraseluler dan faktor pertumbuhan, serta penundaan re-epitalisasi (B. Hu *et al.*, 2021). Fase inflamasi yang berkepanjangan juga ditandai dengan adanya infeksi bakteri secara masif yang menjadi hambatan utama dalam proses penyembuhan luka (Liang *et al.*, 2019; Hasan *et al.*, 2021). Adapun bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi pada ulkus kaki diabetik adalah bakteri Gram positif, terhitung sekitar 70%, dimana lebih dari setengahnya adalah strain *Staphylococcus aureus* (Permana *et al.*, 2020; Chang and Nguyen, 2021; Fernández-Grajera *et al.*, 2022).

Strain *S. aureus* menyebabkan infeksi serius pada penderita diabetes. Bakteri ini dapat tumbuh secara optimal pada pH 7,0-7,5 saat cedera awal (Jones, Cochrane and Percival, 2015). Infeksi bakteri ini dalam kondisi hiperglikemik dapat menyebabkan hiperkoagulasi dan peningkatan virulensi. Konsentrasi glukosa yang tinggi dapat mempengaruhi mekanisme patogenik *S. aureus*. Glukosa dalam konsentrasi tinggi menginduksi agregasi *S. aureus*, dimana sejumlah besar asam laktat yang terbentuk diinduksi oleh glukosa menghasilkan penurunan nilai pH. Lingkungan yang asam dihasilkan dari glikolisis adalah faktor penting yang menginduksi dengan cepat proses agregasi *S. aureus*. Agregasi *S. aureus* dimediasi oleh produk bakteri berupa

polysaccharide intercellular adhesin (PIA) dan beberapa protein, terutama proteinase K. Banyak faktor seperti glukosa, etanol, dan kondisi anaerob dapat meningkatkan produksi PIA. Dalam kondisi anaerob, strain *S. aureus* meningkatkan sintesis enzim fermentasi seperti laktat dehidrogenase dan alkohol dehidrogenase serta akumulasi produk fermentasi seperti asam laktat dan asam asetat (Luo *et al.*, 2019; Kvich *et al.*, 2022). Produksi asam laktat dan asam asetat dari hasil fermentasi glukosa menciptakan lingkungan mikro luka dengan kondisi yang asam, yakni $\text{pH} \leq 5$. Kondisi asam tersebut bersifat abnormal dan tidak mempengaruhi kelangsungan hidup *S. aureus* selama fase stasioner (Lu *et al.*, 2015; Albright *et al.*, 2017; Hu *et al.*, 2017; J. Huang *et al.*, 2018; Luo *et al.*, 2020). Konsentrasi glukosa diabetik juga menghasilkan peningkatan jumlah bakteri dan indeks lendir biofilmnya sekitar 400% di atas kondisi normal (Fernández-Grajera *et al.*, 2022). Dua transporter glukosa (GlcA dan GlcC) dari *S. aureus* sangat penting untuk peningkatan produksi faktor virulensi dan keparahan penyakit secara bersamaan pada infeksi hiperglikemik. Kondisi metabolik ini memberikan *S. aureus* kemampuan untuk tumbuh subur di tempat peradangan (Vitko *et al.*, 2016; Thurlow *et al.*, 2020). Oleh karena itu, penting untuk mengembangkan strategi yang efektif sebagai resolusi fase inflamasi yang berkepanjangan akibat infeksi bakteri dan produksi sitokin proinflamasi serta protease yang berlebihan, eliminasi ROS, dan perangsangan pembentukan faktor pertumbuhan dalam lingkungan mikro luka untuk mempercepat penyembuhan ulkus kaki diabetik (B. Hu *et al.*, 2021).

II.2 Hidrogel Berbasis Ikatan Basa Schiff

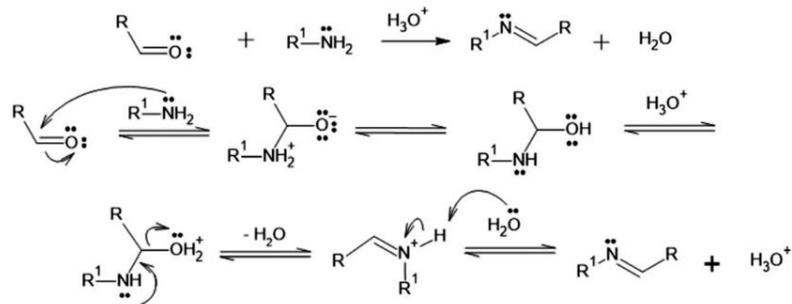
Berbagai jenis pembalut luka telah dikembangkan dalam beberapa tahun terakhir. Secara garis besar, jenis pembalut luka dapat dibedakan menjadi 2, yaitu pembalut luka tradisional dan modern. Pembalut luka tradisional seperti perban alami atau sintetis, kapas, serat dan kain kasa, semuanya dengan daya serap berbeda, digunakan untuk penanganan luka. Pembalut kering konvensional ini memberikan perlindungan luka secara pasif dan salah satu keterbatasannya adalah ketidakmampuan mempertahankan lingkungan yang lembab untuk penyembuhan luka yang efektif (Vishal Gupta *et al.*, 2021). Sementara itu, pembalut luka modern umumnya berbahan dasar polimer, seperti hidrogel, busa, film, hidrokoloid, dan alginat. Hidrogel telah dilaporkan menjadi pilihan terbaik dibandingkan dengan bentuk balutan lainnya karena memenuhi persyaratan balutan luka yang ideal (Kamoun, Kenawy and Chen, 2017; Liang *et al.*, 2019). Hidrogel mewakili tipe pembalut luka modern yang dapat menyerap eksudat jaringan dan mendinginkan permukaan luka, sehingga mengurangi rasa sakit bagi pasien. Selain itu, hidrogel juga dapat berperan sebagai penghalang yang melindungi luka dari mikroorganisme dan mencegah lingkungan luka yang lembab menjadi kering untuk menghindari pembentukan jaringan parut (W. Huang *et al.*, 2018; Liang *et al.*, 2019; Bai *et al.*, 2020; He *et al.*, 2020; Khan *et al.*, 2021; Xia *et al.*, 2021). Hidrogel mempertahankan keterbasahan dan kelembapan di lokasi luka karena kandungan airnya yang tinggi (>90%). Hidrogel juga dapat mensimulasikan struktur jaringan hidup alami dan menunjukkan respons

terhadap rangsangan fisiologis dan eksternal, seperti suhu, pH, dan kekuatan ionik, serta dapat meningkatkan penetrasi oksigen, yang mempercepat pembentukan jaringan dan meningkatkan proses penyembuhan luka (Kamoun, Kenawy and Chen, 2017; Nguyen *et al.*, 2018, 2019; Zhang *et al.*, 2020; B. Hu *et al.*, 2021).

Hidrogel merupakan jaringan hidrofilik tiga dimensi alami yang dibuat melalui ikatan silang fisik atau kimia dari polimer terlarut (Kamoun, Kenawy and Chen, 2017; Nguyen *et al.*, 2018; Zhang, He and Chen, 2018; Xia *et al.*, 2021). Tautan silang fisik, seperti ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi *host-guest*, interaksi elektrostatik, koordinasi logam, dan penumpukan ikatan π - π , menghasilkan arsitektur hidrogel yang sangat dinamis, tetapi cepat terdegradasi. Sementara itu, tautan silang kimia berupa ikatan kovalen dinamis, yang dibentuk oleh reaksi klik seperti reaksi adisi Michael, pembentukan oksim, reaksi Diels-Alder, dan pembentukan basa Schiff, menawarkan kinetika degradasi yang lebih lambat dan dapat disesuaikan untuk mengoptimalkan sifat fisikokimia dan biomekanik dari jaringan secara alami, serta memfasilitasi diferensiasi dan proliferasi sel (Zhang, He and Chen, 2018; Sahajpal *et al.*, 2022). Pada penelitian ini, hidrogel dibentuk melalui tautan silang kimia berupa ikatan basa Schiff.

Ikatan basa Schiff merupakan ikatan kovalen dinamis antara gugus amina dan karbonil (berupa keton atau aldehid) yang secara *reversible* dapat membentuk hidrogel dengan sifat sensitif terhadap pH (Xu, Liu and Hsu, 2019; Sahajpal *et al.*, 2022). Penggunaan keton kurang menguntungkan

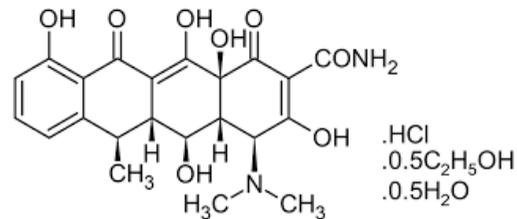
dibandingkan penggunaan aldehid untuk pembentukan hidrogel berdasarkan ikatan basa Schiff karena curah steriknya yang relatif lebih besar, sehingga mendorong kesetimbangan pembentukan imina ke sisi reaktan (Sahajpal *et al.*, 2022).



Gambar 4. Mekanisme Pembentukan Ikatan Basa Schiff (Sahajpal *et al.*, 2022)

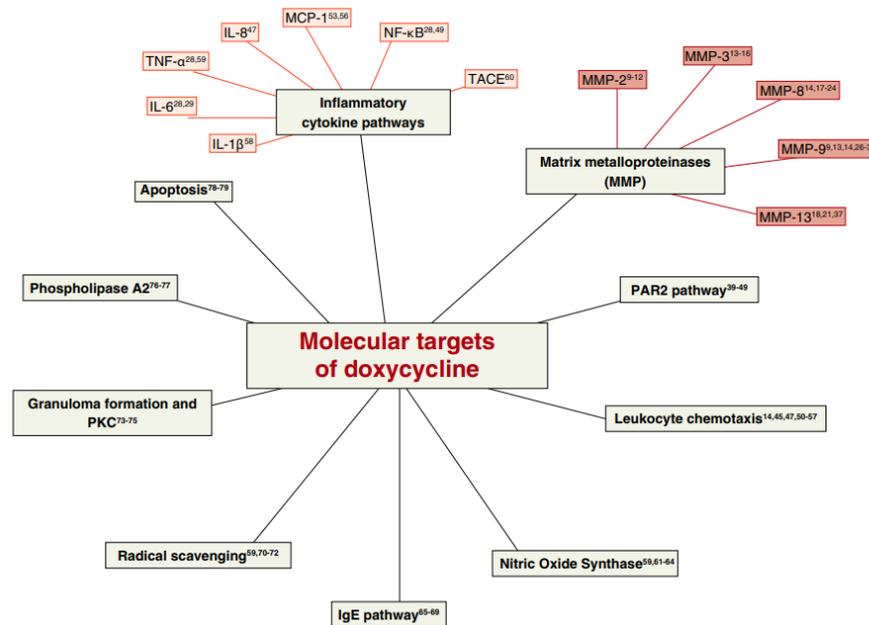
Ikatan basa Schiff dapat diputus dengan hidrolisis dan stabilitasnya akan menurun seiring penurunan nilai pH (Shi *et al.*, 2014). Ikatan tersebut biasanya terbentuk pada kisaran pH 4-7. Hidrogel ikatan silang basa Schiff dapat hancur dalam media asam kuat karena nitrogen imina dapat terprotonasi dan terhidrolisis kembali ke aldehida dan amina awal (Sahajpal *et al.*, 2022). Oleh karena itu, ikatan tersebut dapat membentuk hidrogel yang sangat sensitif terhadap pH, sehingga dapat melepaskan obat secara terkontrol dan lebih efektif untuk menyembuhkan luka dengan cepat (Khan *et al.*, 2021).

II.3 Doksisisiklin Hiklat



Gambar 5. Struktur Kimia Doksisisiklin Hiklat (Laturkar *et al.*, 2021)

Doksisisiklin hiklat (Doxy) adalah turunan semi sintetis dari tetrasiklin yang bersifat bakteristatik dengan spektrum luas, sehingga efektif melawan bakteri Gram positif dan negatif, aerobik dan anaerobik serta *spirochaetes*, mikoplasma, dan beberapa protozoa. Doxy dipatenkan pada tahun 1957 dan telah disetujui oleh FDA pada tahun 1967. Obat ini secara *reversible* berikatan dengan subunit ribosom 30S dan 50S, mencegah pengikatan aminoasil-tRNA ke mRNA dan menghambat sintesis protein bakteri (Inamuddin *et al.*, 2018; Laturkar *et al.*, 2021). Dibandingkan dengan oksitetrasiklin, klorotetrasiklin, dan tetrasiklin, Doxy memiliki tingkat lipofilisitas 5-10 kali lebih besar. Doxy juga menunjukkan tingkat pengikatan protein plasma yang lebih kuat dibandingkan dengan oksitetrasiklin dan klorotetrasiklin (Inamuddin *et al.*, 2018). Doxy memiliki bioavailabilitas lebih dari 80% ketika dikonsumsi secara oral dengan penyerapan yang relatif lebih sedikit dipengaruhi oleh asupan makanan dibandingkan tetrasiklin lainnya (Henehan, Montuno and De Benedetto, 2017). Namun, pemberian oral Doxy menghasilkan efek samping seperti sariawan, esofagitis, mual, muntah, nyeri abdomen, dan iritasi lambung (Borse, Gangude and Deore, 2020; Laturkar *et al.*, 2021).



Gambar 6. Target Molekul Doksisisiklin Hiklat Sebagai Antiinflamasi (Henehan, Montuno and De Benedetto, 2017)

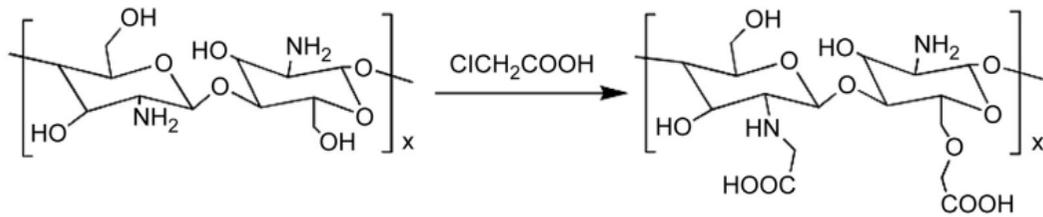
Doxy juga digunakan sebagai obat antiinflamasi dengan target molekul seperti yang ditunjukkan pada gambar 6. Salah satu target antiinflamasi dari Doxy adalah penghambatan MMP melalui khelasi ion struktural (kalsium) atau katalitik (seng) yang diperlukan untuk fungsi enzimatik (Gabriele *et al.*, 2019). Doxy dalam dosis subantimikroba adalah satu-satunya obat yang disetujui FDA yang terdaftar secara khusus sebagai penghambat MMP, khususnya MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, dan MMP-13 (Henehan, Montuno and De Benedetto, 2017). Selain itu, Doxy secara oral telah digunakan dalam penelitian ulkus kaki kronis, tetapi konsentrasi obat pada luka terbukti tidak cukup untuk menghambat aktivitas MMP. Selanjutnya, Serra *et al* menemukan bahwa Doxy secara topikal dapat menurunkan aktivitas proteolitik pada cairan luka ulkus kaki vena kronis, dan aplikasi klinis pengobatan Doxy topikal 1%

menunjukkan efek menguntungkan pada proses penyembuhan luka (Gabriele *et al.*, 2019). Pelepasan Doxy secara terkontrol dapat mengurangi efek samping obat ini dan dapat meningkatkan efektivitasnya selama masa pengobatan jangka panjang (Inamuddin *et al.*, 2018).

II.4 Karboksimetil Kitosan dan Aldehida Asam Hialuronat

II.4.1 Karboksimetil Kitosan (KK)

Kitosan adalah turunan kitin terdeasetilasi yang terdiri dari glukosamin dan N-asetilglukosamin (Deng *et al.*, 2017). Kitosan banyak digunakan dalam perawatan luka karena bersifat biokompatibel, *biodegradable*, dan non-antigenik, serta memiliki kemampuan antibakteri, *tissue-adhesive* dan hemostasis yang baik (Nguyen *et al.*, 2019; Bai *et al.*, 2020; Hedayatyanfard *et al.*, 2020; Nguyen-My Le *et al.*, 2020; Puertas-Bartolomé *et al.*, 2020; B. Hu *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2021). Untuk meningkatkan kelarutan kitosan dalam kondisi fisiologis, turunan kitosan seperti karboksimetil kitosan (KK) biasanya lebih sering digunakan (Zhang *et al.*, 2020; Xia *et al.*, 2021). KK diperoleh dengan menambahkan gugus karboksimetil ke dalam terminal-N dan O dari unit glukosamin dan N-asetilglukosamin dari kitosan (Song *et al.*, 2016; Nguyen *et al.*, 2018; Nguyen-My Le *et al.*, 2020). Reaksi karboksimetilasi tersebut terdiri dari dua reaksi kondensasi. Pertama, antara gugus amina kitosan dan atom karbon elektrofilik asam monokloroasetat. Kedua, antara gugus hidroksil kitosan dan atom karbon elektrofilik dari asam monokloroasetat (Li *et al.*, 2014).

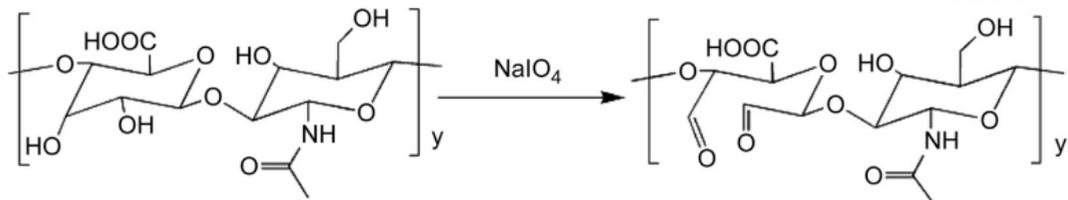


Gambar 7. Reaksi Pembentukan Karboksimetil Kitosan (Li *et al.*, 2014)

II.4.2 Aldehida Asam Hialuronat (AAH)

Asam hialuronat adalah polisakarida glikosaminoglikan linier yang terdiri dari N-asetil-D-glukosamin dan asam D-glukuronat (Li *et al.*, 2014; Nguyen *et al.*, 2018). Asam hialuronat ditemukan di semua jaringan tubuh dan berperan sebagai komponen penting dari matriks ekstraseluler yang berkontribusi pada integritas mekanis jaringan. Berkat biodegradabilitas dan biokompatibilitasnya yang sangat baik, asam hialuronat memiliki potensi besar dalam rekayasa jaringan dan perawatan luka (Deng *et al.*, 2017; Nguyen *et al.*, 2019; Nguyen-My Le *et al.*, 2020; Puertas-Bartolomé *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2021). Selain itu, asam hialuronat memiliki sifat gelasi dan kapasitas retensi air yang baik, serta telah dilaporkan dapat merangsang terjadinya angiogenesis dan regenerasi kulit (B. Hu *et al.*, 2021). Namun, hidrogel asam hialuronat sering menunjukkan sifat erosif dan degradasi enzimatik yang cepat serta sifat mekanik yang rendah, sehingga membatasi penggunaannya (Li *et al.*, 2014; Deng *et al.*, 2017). Untuk mengatasi hal tersebut, asam hialuronat dioksidasi dengan natrium periodat (NaIO₄) yang dapat memutus ikatan C-C dari posisi *cis vicinal diols* dan membentuk gugus aldehida yang reaktif pada bagian asam D-glukuronat sebagai turunan dialdehida, yang kemudian

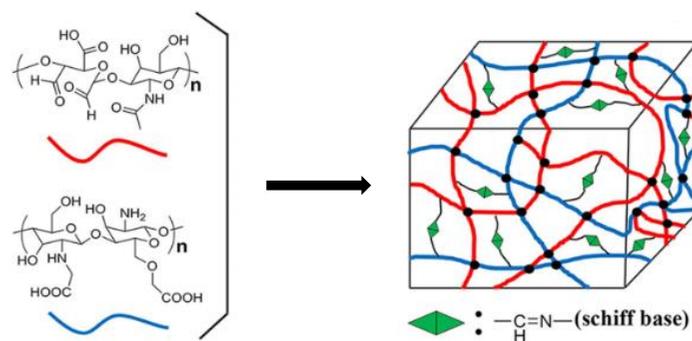
disebut dengan aldehida asam hialuronat (AAH) (Li *et al.*, 2014; Song *et al.*, 2016; Deng *et al.*, 2017; Nguyen *et al.*, 2018, 2019; Chen *et al.*, 2021).



Gambar 8. Reaksi Pembentukan Aldehida Asam Hialuronat (Li *et al.*, 2014)

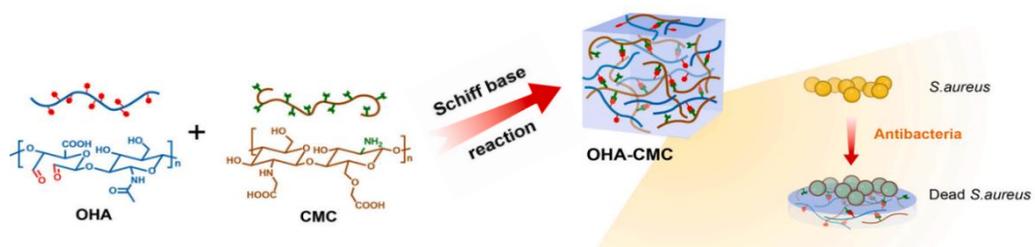
II.4.3 Kombinasi KK dan AAH

Hidrogel yang terbentuk dari KK dan AAH bersifat biokompatibel, *biodegradable* dan memiliki kapasitas gelasi yang cepat (Zhuang *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2021). Hidrogel tersebut juga memiliki kapasitas penyerapan dan retensi air yang baik sehingga dapat memberikan permeabilitas yang tinggi dan memastikan pertumbuhan sel untuk perbaikan jaringan secara homogen (Chen *et al.*, 2021). Proses gelasi hidrogel tersebut terjadi melalui ikatan basa Schiff antara gugus amina ($-NH_2$) pada karboksimetil kitosan dengan gugus aldehyd ($-CHO$) pada aldehida asam hialuronat (Li *et al.*, 2014; Zhuang *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2021).



Gambar 9. Reaksi Pembentukan Ikatan Basa Schiff dari Karboksimetil Kitosan dan Aldehida Asam Hialuronat (Song *et al.*, 2016)

Telah diketahui bahwa pertumbuhan bakteri pada luka menghasilkan proton dan menginduksi pengasaman lokal. Peningkatan keasaman akan memutus ikatan basa Schiff dari kombinasi kedua polimer tersebut untuk dapat melepaskan antibiotik yang selanjutnya membunuh bakteri (Albright *et al.*, 2017; Hu *et al.*, 2017). Adapun ilustrasi mekanisme kerja hidrogel berbasis kombinasi KK dan AAH dapat dilihat pada gambar 10.



Gambar 10. Ilustrasi Penggunaan Hidrogel dari Kombinasi Karboksimetil Kitosan dan Aldehida Asam Hialuronat (B. Hu *et al.*, 2021)