

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka kronis merupakan salah satu masalah kesehatan global yang signifikan, yaitu luka yang gagal melalui tahapan penyembuhan dalam waktu yang diharapkan (lebih dari enam minggu) serta tidak menunjukkan pemulihan fungsional setelah tiga bulan (Ge & Wang, 2023). Secara global, luka kronis diperkirakan memengaruhi sekitar 2,2% populasi dunia dengan beban ekonomi melebihi USD 25 miliar per tahun di negara-negara dengan sistem layanan kesehatan yang maju (Frykberg & Banks, 2015). Berbeda dengan luka akut, luka kronis cenderung bertahan dalam jangka waktu lama sehingga meningkatkan risiko komplikasi dan menurunkan kualitas hidup pasien. Jenis luka kronis yang paling umum dijumpai dalam praktik klinis meliputi ulkus diabetikum, ulkus arteri atau vena, luka bakar, serta luka pasca bedah yang sulit sembuh (Dowd et al ., 2011).

Salah satu faktor utama yang menghambat penyembuhan luka kronis adalah infeksi mikroba. Meskipun infeksi bakteri selama ini menjadi fokus perhatian utama, peran jamur semakin dianggap penting karena prevalensinya yang tidak dapat diabaikan. Dari 915 kasus luka kronis yang diteliti mencakup ulkus kaki diabetik, luka pasca bedah, dan ulkus vena, sekitar 23% di antaranya positif mengandung spesies jamur. *Candida albicans* merupakan patogen jamur yang paling sering ditemukan dengan prevalensi mencapai 40,1% dari seluruh kasus infeksi jamur pada luka kronis, dan diketahui dapat memperlambat penyembuhan serta meningkatkan risiko komplikasi serius yang mengancam jiwa apabila tidak ditangani secara tepat (Ge & Wang, 2023).

Amfoterisin B (AMB) merupakan salah satu agen antijamur yang hingga kini masih efektif digunakan untuk terapi infeksi jamur, termasuk pada luka kronis. AMB adalah antijamur golongan poliena dengan spektrum aktivitas luas dan tingkat resistensi klinis yang relatif rendah (Cavassin et al ., 2021). Dibandingkan dengan antijamur golongan azol, AMB memiliki keunggulan karena tetap efektif terhadap berbagai spesies jamur patogen yang resisten (Fernández-García et al ., 2017). Dalam aplikasi topikal, termasuk pada sistem pembalut luka, AMB dilaporkan mampu memberikan aktivitas antijamur yang baik tanpa menunjukkan potensi sitotoksik signifikan (Alexandrino-Junior et al ., 2019; Nadeem et al ., 2011). Namun, AMB memiliki keterbatasan utama berupa kelarutan yang sangat rendah dalam air dan diklasifikasikan sebagai obat BCS kelas IV. Keterbatasan ini dapat menurunkan ketersediaan hayati dan laju difusi obat dari matriks hidrogel atau sistem penghantaran topikal, sehingga menurunkan efektivitas terapi (Wang et al ., 2021). Oleh karena itu, diperlukan strategi formulasi untuk meningkatkan kelarutan AMB agar dapat dioptimalkan penggunaannya dalam sistem penghantaran obat topikal.

Pembentukan kompleks inklusi dengan siklodekstrin (CD) merupakan salah satu strategi yang paling banyak diteliti untuk mengatasi permasalahan kelarutan obat yang buruk. Siklodekstrin adalah oligosakarida siklik yang memiliki rongga hidrofobik di bagian dalam dan permukaan hidrofilik di bagian luar, sehingga memungkinkan

enkapsulasi molekul obat hidrofobik di dalam rongganya dan meningkatkan kelarutannya dalam medium berair (Loftsson & Brewster, 1996a). Di antara ketiga jenis siklodekstrin, γ -siklodekstrin (γ -CD) dan turunannya seperti hidroksipropil- γ -siklodekstrin (HP- γ -CD) unggul dalam hal kelarutan air dan ukuran rongga yang sesuai untuk mengakomodasi molekul obat berukuran besar seperti AMB. Pembentukan kompleks inklusi AMB dengan γ -CD telah dilaporkan meningkatkan kelarutan AMB secara signifikan (Ruiz et al., 2014), dan penggunaan turunan hidroksipropil umumnya menghasilkan kompleks yang lebih stabil dan lebih larut, sebagaimana ditunjukkan pada studi Shityakov et al. (2017) untuk peningkatan kelarutan kurkumin.

Dalam konteks pengobatan luka kronis, penggunaan pembalut luka (*wound dressing*) berbasis material polimer telah banyak dikembangkan sebagai sistem penghantaran obat topikal. Pembalut luka yang ideal tidak hanya berfungsi sebagai pelindung luka, tetapi juga harus mampu mempertahankan kelembapan lingkungan luka, menyerap eksudat, bersifat biokompatibel, serta memiliki aktivitas antimikroba atau antijamur (Fleck, 2009; Soylu et al., 2025). Dibandingkan sediaan topikal konvensional seperti salep atau gel yang memerlukan aplikasi berulang, pembalut luka berbasis polimer memungkinkan pelepasan obat yang lebih terkontrol dan berkelanjutan sekaligus mengurangi risiko kontaminasi selama perawatan (Nguyen et al., 2023; Nuutila & Eriksson, 2021; Sheokand et al., 2023).

Beberapa material yang banyak dikembangkan untuk pembalut luka antara lain polivinil alkohol (PVA) dan kitosan. PVA merupakan polimer sintesis yang larut air, tidak toksik, dan biokompatibel, sedangkan kitosan bersifat biokompatibel, biodegradabel, serta memiliki aktivitas antimikroba yang mendukung penyembuhan luka (Dambuza et al., 2025; Vega-Cázarez et al., 2018). Pembalut berbasis kitosan dilaporkan dapat mempersingkat waktu penyembuhan dan mengurangi peradangan berlebih yang sering memicu infeksi (Amjadian et al., 2016), dan kombinasi PVA–kitosan menunjukkan potensi antibakteri serta mendukung penyembuhan pada berbagai jenis luka, termasuk yang terinfeksi bakteri maupun jamur (Che et al., 2024; Pinto et al., 2024). Penambahan agen antijamur seperti AMB ke dalam matriks pembalut luka berbasis polimer juga telah dilaporkan meningkatkan efektivitas pengendalian infeksi jamur pada luka (Herculano, Dos Reis, et al., 2024).

Untuk memproduksi pembalut luka berbasis serat, pemintalan basah (*wet spinning*) merupakan salah satu metode yang menjanjikan. Metode ini dipilih karena memiliki sejumlah keunggulan yang relevan untuk aplikasi pembalut luka berbasis serat. Dibandingkan dengan metode *electrospinning* yang banyak digunakan dalam penelitian serupa, *wet spinning* tidak memerlukan tegangan listrik tinggi dan tidak bergantung pada pelarut organik toksik dalam proses pembentukannya, sehingga lebih aman bagi bahan aktif yang sensitif dan lebih ramah lingkungan (Kuznik et al., 2022). Proses ini relatif sederhana, dapat diskalakan, dan memiliki produktivitas yang baik. Larutan polimer dipintal melalui *spinneret* dan dicelupkan ke dalam bak koagulan untuk membentuk serat, dengan karakteristik serat seperti diameter dan morfologi yang dapat dikendalikan melalui pengaturan parameter proses (Afzal et al., 2023; Ozipek & Karakas, 2014; Rickman et al., 2019). Dengan demikian, *wet spinning* merupakan

teknik yang sesuai untuk menghasilkan material serat dalam aplikasi biomedis, termasuk pembalut luka.

Meskipun berbagai komponen di atas telah banyak diteliti secara terpisah, hingga saat ini masih sangat terbatas penelitian yang mengevaluasi formulasi kompleks inklusi AMB-HP- γ -CD yang diinkorporasikan ke dalam serat berbasis PVA/kitosan dan diproduksi melalui metode *wet spinning*. Oleh karena itu, penelitian ini penting untuk mengisi celah literatur dalam pengembangan sistem pembalut luka berbasis serat yang tidak hanya memiliki sifat fisikokimia dan mekanik yang baik, tetapi juga mampu meningkatkan kelarutan, mengontrol pelepasan, serta mempertahankan aktivitas antijamur AMB secara topikal. Dengan demikian, penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan efektivitas terapi pada luka yang terinfeksi jamur sekaligus memberikan kontribusi bagi pengembangan teknologi penghantaran obat berbasis material polimer.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Bagaimana karakteristik fisikokimia, dan aktivitas anti-*Candida albicans* secara *in vitro* dari kompleks inklusi AMB dengan HP- γ -CD yang diproduksi menggunakan metode *kneading*, *solvent evaporation 1*, *solvent evaporation 2* ?
2. Bagaimana pengaruh variasi komposisi PVA/kitosan terhadap karakteristik serat yang dihasilkan melalui metode *wet spinning*?
3. Bagaimana morfologi dan profil pelepasan obat dari serat PVA/kitosan yang mengandung kompleks inklusi AMB/HP- γ -CD dalam uji pelepasan *in vitro*?
4. Bagaimana karakteristik fisikokimia dan aktivitas anti-*Candida albicans* secara *in vitro* dari serat PVA/kitosan berbasis kompleks inklusi AMB/HP- γ -CD yang dibuat dengan metode *wet spinning*?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang di atas, tujuan penelitian ini adalah :

1. Untuk mengkaji karakteristik fisikokimia, dan aktivitas anti-*Candida albicans* dari kompleks inklusi AMB dengan HP- γ -CD yang diproduksi menggunakan metode *kneading*, *solvent evaporation 1*, *solvent evaporation 2*.
2. Untuk mengembangkan serat PVA/kitosan yang mengandung kompleks inklusi AMB/HP- γ -CD menggunakan metode *wet spinning* berserta optimasi formulasinya untuk aplikasi pembalut luka antijamur.
3. Untuk menentukan morfologi dan profil pelepasan obat dari serat PVA/kitosan yang mengandung kompleks inklusi AMB/HP- γ -CD melalui uji pelepasan *in vitro*.
4. Untuk mengevaluasi karakteristik fisikokimia dan aktivitas anti-*Candida albicans* secara *in vitro* dari serat PVA/kitosan berbasis kompleks inklusi AMB/HP- γ -CD yang dibuat dengan metode *wet spinning*.

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Rancangan dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang bertujuan untuk membuat serat PVA/kitosan hasil pemintalan basah (*wet spinning*) yang mengandung kompleks AMB/HP- γ -CD serta mengevaluasi karakteristik fisikokimia, aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*, dan profil pelepasan obat secara *in vitro*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasetika dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan analitik (Ohaus®), spektrofotometer UV-Vis (Dynamica® HALO XB-10), oven (Mettler®), centrifuge (Hermle Z200a, Edison, NJ, USA), force tester MCT-2150, magnetic stirrer, orbital shaker (Optima®), densitometer DEN-1 (Biosan®), cawan petri, vial, mikropipet (Scilogex®), mikrokuvet, hot plate, pH meter (Lutron®), vortex, tabung eppendorf, ayakan mesh no. 75, syringe pump (Terumo® TE-311), dehydrator (KRIS®), mikroskop, autoklaf, instrumen SEM (TM3030), instrumen FT-IR, instrumen ^1H NMR, serta peralatan gelas lainnya (Pyrex®).

Bahan yang digunakan antara lain : AMB diperoleh dari Cayman Chemical Company (kemurnian $\geq 95\%$) (Ann Arbor, MI, AS). Kitosan berat molekul rendah dan PVA (berat molekul 89–98 kDa, terhidrolisis 99%) diperoleh dari Sigma-Aldrich Pte Ltd. (Singapura). HP- γ -CD (rerata substitusi molar 0,6) diperoleh dari Ashland Inc. (Wilmington, DE, AS). Glutaraldehid, natrium tripolifosfat (TPP), dimetil sulfoksida (DMSO), metanol, tablet phosphate-buffered saline (PBS), deuterium oksida, dan asam asetat (glasial, kualitas analitik) diperoleh dari Sigma-Aldrich Pte Ltd. (Singapura). Potato Dextrose Agar (PDA) dan Potato Dextrose Broth (PDB) diperoleh dari HIMEDIA Laboratories Pvt. Ltd. (Thane, India). *Candida albicans* ATCC 14053 disuplai oleh Thermo Fisher Scientific Inc. (Waltham, MA, AS). Seluruh pelarut dan reagen lain berkualitas analitik dan digunakan tanpa pemurnian lebih lanjut.

2.3 Metode Penelitian

2.3.1 Analisis Amfoterisin B (AMB)

Pembuatan Larutan Dapar Fosfat Salin (PBS) pH 7,4. Larutan PBS pH 7,4 dibuat menggunakan tablet PBS. Sebanyak 1 tablet PBS dilarutkan dalam 1000 mL air murni steril sesuai petunjuk pabrik, kemudian dihomogenkan menggunakan magnetic stirrer hingga tablet larut sempurna. pH larutan diukur menggunakan pH meter dan dipastikan berada pada pH 7,4. Apabila diperlukan, pH disesuaikan dengan penambahan NaOH 0,1 N atau HCl 0,1 N tetes demi tetes. Larutan kemudian disimpan dalam wadah tertutup hingga digunakan.

Pembuatan Larutan Stok Amfoterisin B. Sebanyak 10 mg amfoterisin B BPFI ditimbang menggunakan timbangan analitik. AMB dipindahkan ke dalam gelas beaker dan dilarutkan dengan 8 mL DMSO pro analis. Larutan kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL dan dicukupkan volumenya hingga tanda batas,

diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 µg/mL (10 mg/10 mL = 1 mg/mL = 1000 µg/mL).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}) Amfoterisin B. Larutan stok AMB dipipet sebanyak 50 µL dan dicukupkan hingga 1 mL (50 µg/mL) dengan menggunakan tiga pelarut berbeda, yaitu air murni, PBS pH 7,4, dan metanol 50%. Panjang gelombang maksimum ditentukan dari serapan tertinggi pada sampel. Selanjutnya, larutan ini diukur menggunakan spektrofotometer dalam rentang panjang gelombang 200 hingga 800 nm terhadap pelarut yang sama sebagai blanko.

Pembuatan Kurva Baku Amfoterisin B. Kurva baku amfoterisin B dibuat dalam tiga medium yang berbeda. Pada setiap medium, sebanyak 1 mL larutan stok amfoterisin B (1000 µg/mL) dipipet ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan hingga tanda batas untuk memperoleh larutan antara 100 µg/mL. Larutan antara tersebut kemudian diencerkan lebih lanjut untuk menghasilkan lima variasi konsentrasi, yaitu 10–160 µg/mL dalam air murni (kurva baku 1), 6,25–100 µg/mL dalam PBS pH 7,4 (kurva baku 2), dan 5–25 µg/mL dalam metanol 50% (kurva baku 3). Absorbansi masing-masing larutan diukur pada panjang gelombang maksimum amfoterisin B menggunakan spektrofotometer UV–Vis, dan kurva baku dibuat dengan memplotkan hubungan antara nilai absorbansi terhadap konsentrasi larutan.

2.3.2 Pembuatan Kompleks Inklusi AMB/HP-γ-CD

Diagram fase kelarutan dibuat berdasarkan metode Higuchi & Connors. Pertama, kelarutan diukur dengan mendispersikan AMB dengan jumlah berlebih ke dalam dua jenis pelarut, yaitu air murni dan metanol 50%, masing-masing mengandung siklodekstrin. Kelarutan diukur dalam satu seri konsentrasi siklodekstrin (0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 mM). Dispersi yang terbentuk digojok pada kecepatan 100 rpm selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian disaring menggunakan filter dengan ukuran pori nominal 0,45 µm untuk menghasilkan larutan AMB yang jernih. Konstanta stabilitas (K_c) untuk kompleks AMB/HP-γ-CD diperoleh dari kemiringan garis (*slope*) diagram kelarutan fase (mM AMB terlarut vs mM HP-γ-CD) sesuai dengan persamaan 1 (Shityakov et al., 2017).

$$K_c = \frac{\text{slope}}{S_0(1-\text{slope})} \dots\dots\dots (1)$$

K_c = Konstanta stabilitas

Slope = kemiringan garis

S_0 = konsentrasi jenuh AMB dalam pelarut tanpa siklodekstrin

Kompleks inklusi dibuat pada rasio 1:2 menggunakan tiga metode, yaitu:

Metode Kneading. Sebanyak 924 mg AMB dan 3.175 mg HP-γ-CD ditimbang dan dimasukkan ke dalam lumpang. Campuran AMB dan HP-γ-CD kemudian digerus dengan 150 µL larutan metanol-air (1:1 v/v) hingga terbentuk pasta yang homogen. Pengulenan dilakukan secara manual selama 30 menit dan jumlah air yang sesuai ditambahkan sedikit demi sedikit untuk menjaga konsistensi pasta. Selanjutnya campuran tersebut dikeringkan di oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Hasil kompleks

yang telah kering dihancurkan dan disaring menggunakan ayakan berukuran 75 μm . Kompleks inklusi yang diperoleh disimpan dalam wadah tertutup (Paul et al ., 2024).

Metode Solvent Evaporation-1. Sebanyak 924 mg AMB dan 3.175 mg HP- γ -CD ditimbang dan dilarutkan dalam 300 mL metanol 50%. Campuran disonikasi, dan NaOH 0,1 N ditambahkan tetes demi tetes hingga diperoleh larutan kuning yang jernih dan homogen. pH selanjutnya disesuaikan menjadi netral (pH 7,0) dengan penambahan HCl 0,1 N tetes demi tetes sesuai kebutuhan. Larutan jernih yang dihasilkan diuapkan pada 80 °C hingga diperoleh residu kering. Residu tersebut kemudian dikeringkan kembali selama 24 jam pada 50 °C, dihaluskan, dan diayak menggunakan ayakan 75 μm .

Metode Solvent Evaporation-2. Sebanyak 3.175 mg HP- γ -CD ditimbang dan dilarutkan dalam 300 mL air. Campuran diaduk pada suhu 80°C hingga jernih. AMB ditimbang sebanyak 924 mg dilarutkan dengan sedikit metanol 50% lalu ditambahkan tetes demi tetes ke dalam larutan siklodekstrin. Selanjutnya, campuran kompleks diuapkan dan dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Kompleks yang sudah kering kemudian digerus dan disaring menggunakan ayakan berukuran 75 μm . Kompleks inklusi yang diperoleh disimpan dalam wadah tertutup. (Jiang et al ., 2019).

2.3.3 Evaluasi dan Karakterisasi Kompleks Inklusi

Uji kelarutan jenuh (*Saturation Solubility*). Pengujian dilakukan dengan menggunakan dua media, yaitu air murni dan PBS pH 7,4. Prosedur pengujian dilakukan dengan memasukkan AMB murni dan kompleks inklusi AMB/HP- γ -CD dalam jumlah berlebih ke dalam vial berbeda yang berisi ketiga media. Semua vial dikocok menggunakan alat *orbital shaker* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, *filter syringe* digunakan untuk menghilangkan residu padatan dalam campuran. Kemudian supernatannya disentrifugasi selama 15 menit dan dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Absorbansi yang diperoleh kemudian dihitung konsentrasinya menggunakan persamaan regresi yang telah diperoleh (Paul et al ., 2024).

Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR). Sampel AMB murni, kompleks inklusi AMB/HP- γ -CD, campuran fisik/*physical mixture* AMB/HP- γ -CD dan HP- γ -CD murni dianalisis menggunakan ATR-FTIR (*Attenuated Total Reflectance Fourier transform infrared spectrometer*) dalam rentang 500-4000 cm^{-1} (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) (Pasiczna-Patkowska et al ., 2025).

Nuclear Magnetic Resonance (^1H -NMR) spectrometry/Spektrometri resonansi magnetik inti. Analisis ^1H NMR dilakukan untuk AMB murni, HP- γ -CD, campuran fisik, dan kompleks inklusi AMB/HP- γ -CD dengan menggunakan alat spektrometer ^1H NMR Bruker 400 MHz. Sampel dilarutkan dalam pelarut terdeuterasi yang sesuai, yaitu DMSO- d_6 untuk AMB dan D_2O untuk HP- γ -CD serta kompleks inklusi, kemudian spektrum direkam pada instrumen ^1H NMR. Penggunaan pelarut terdeuterasi bertujuan untuk meminimalkan gangguan sinyal pelarut pada spektrum ^1H NMR (Paul et al ., 2024).

Scanning Electron Microscopy (SEM). Pengamatan SEM dilakukan untuk mengevaluasi morfologi permukaan dan bentuk kompleks inklusi. Sampel AMB, HP- γ -CD, campuran fisik, dan kompleks inklusi dianalisis menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) tipe TM3030 yang dilengkapi detektor elektron sekunder pada tegangan percepatan 15 kV.

2.3.4 Aktivitas Antijamur *In Vitro* Kompleks Inklusi

Penyiapan Kultur *Candida albicans*. Strain *C. albicans* ATCC 14053 digunakan dalam penelitian ini. Biakan *Candida albicans* ditumbuhkan dalam media agar miring PDA pada suhu 37°C selama 24 jam. Penyiapan inokulum dilakukan dengan mensuspensikan sel khamir dengan larutan NaCl fisiologis hingga memperoleh kekeruhan setara standar 0.5 McFarland ($1-5 \times 10^6$ CFU) menggunakan densitometer DEN-1 (Biosan).

Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) untuk sampel amfoterisin B murni (AMB), kompleks inklusi AMB/HP- γ -CD, dan HP- γ -CD dilakukan menggunakan metode mikrodilusi pada mikrotiter plate 96 sumur mengacu pada metode Lee & Chee (2010) dan pedoman CLSI M27-Ed4 (2017) dengan beberapa modifikasi.

Larutan stok AMB, kompleks AMB/HP- γ -CD, dan HP- γ -CD disiapkan dalam dimetil sulfoksida (DMSO) dengan konsentrasi 10 kali lebih tinggi dari konsentrasi uji akhir. Seri konsentrasi uji disiapkan dengan pengenceran bertingkat dua kali lipat sehingga diperoleh konsentrasi akhir 16, 8, 4, 2, 1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,0625, dan 0,03 μ g/mL. Setiap sumur diisi dengan 20 μ L larutan sampel (AMB, kompleks AMB/HP- γ -CD, atau HP- γ -CD), 20 μ L suspensi *Candida albicans*, dan 160 μ L media *Potato Dextrose Broth* (PDB), sehingga volume akhir dalam setiap sumur adalah 200 μ L dan konsentrasi sampel sesuai dengan konsentrasi uji yang diinginkan. Kontrol pertumbuhan disiapkan dengan menambahkan 20 μ L suspensi *C. albicans* dan 180 μ L media PDB tanpa sampel uji, sedangkan kontrol media disiapkan dengan mengganti larutan sampel dengan DMSO pada volume yang sama.

Mikrotiter *plate* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Penentuan nilai MIC dilakukan secara visual berdasarkan tidak adanya pertumbuhan jamur, yang ditandai dengan tidak terbentuknya kekeruhan pada medium dibandingkan dengan kontrol pertumbuhan. Nilai MIC ditetapkan sebagai konsentrasi terendah dari masing-masing sampel uji yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan jamur secara visual.

Uji Daya Hambat. Pengujian aktivitas antimikroba dengan metode difusi cakram dilakukan dengan mengikuti metode uji CLSI M44-3rd ed. (2018) dengan modifikasi. *Cotton swab* dicelupkan ke dalam suspensi biakan *C. albicans* yang telah disiapkan. Swab kemudian digoreskan secara merata di atas permukaan media PDA. Sampel uji (AMB 12,5 mg dan kompleks AMB/HP- γ -CD 55,5 mg) masing-masing dilarutkan dalam 5 ml DMSO. Sebanyak 20 μ L sampel uji dimasukkan ke dalam *paper disk* (50 μ g/ *paper disk*) dan diletakkan di atas media. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk kemudian diukur menggunakan jangka sorong. (Putra Setiya et al., 2024).

2.3.5 Pembuatan Serat Pintal Basah

Formulasi serat pital basah. Serat PVA-Kitosan dibuat dengan metode pital basah dengan memvariasikan jumlah kitosan dalam formula. Komposisi formula yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi formula serat

Komposisi (%b/v)	Formula				
	P10C ₀	P ₉ C ₁	P ₈ C ₂	P ₇ C ₃	P ₆ C ₄
PVA 25 %	100	90	80	70	60
Kitosan 5%	-	10	20	30	40

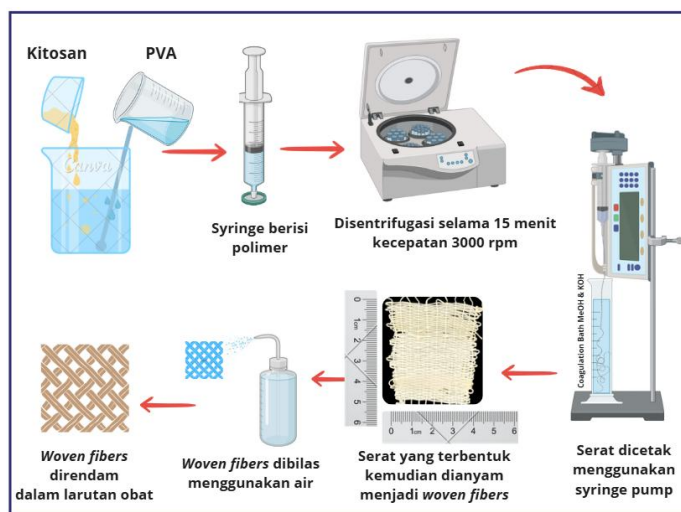
Pembuatan larutan polimer Kitosan dan Polivinil Alkohol (PVA). Larutan PVA (25%) dibuat dengan mencampurkan PVA ke dalam air suling secara perlahan kemudian dipanaskan pada suhu 90°C sambil diaduk sesekali hingga diperoleh campuran yang homogen dan jernih. Larutan PVA kemudian didinginkan sampai suhu kamar sebelum digunakan. Larutan kitosan (5%) diperoleh dengan mendispersikan serbuk kitosan ke dalam asam asetat 1% kemudian diaduk dan dibiarkan terhidrasi selama satu malam sambil diaduk sesekali hingga diperoleh larutan yang homogen dan jernih.

Uji reologi Uji reologi dilakukan untuk mengevaluasi sifat alir larutan polimer sebelum proses *wet spinning*. Pengukuran dilakukan menggunakan LAMY *Rheology* pada suhu ruang dengan spindel nomor 7. Larutan polimer PVA/kitosan diukur pada beberapa variasi kecepatan putar (rpm). Parameter yang diamati meliputi viskositas (cP), shear stress (mPa), torque (%), dan suhu (°C) yang terbaca langsung pada alat. Data yang diperoleh kemudian digunakan untuk membuat grafik hubungan antara *shear stress* dan *shear rate* untuk menentukan jenis perilaku alir larutan polimer (Yadav et al ., 2016).

Pembuatan serat PVA/Kitosan dengan metode pemintalan basah. Serat PVA/kitosan dibuat menggunakan metode pemintalan basah (*wet spinning*) berdasarkan metode yang dilaporkan oleh Vega-Cázarez et al ., (2018) dengan beberapa modifikasi. Campuran PVA dan kitosan digerus menggunakan lumpang dan alu, kemudian dihomogenkan menggunakan *homogenizer* selama 5-10 menit, hingga diperoleh campuran yang homogen. Larutan polimer kemudian dimasukkan ke dalam *syringe* yang ujungnya ditutup. Larutan polimer selanjutnya didiamkan selama 24 jam untuk menghilangkan gelembung udara, kemudian disentrifugasi pada 3000 rpm selama 15 menit. *Syringe* yang berisi larutan polimer dipasang pada *syringe pump*, kemudian larutan dipompa melalui *spinneret* ke dalam medium presipitasi yang ditempatkan dalam bejana vertikal berisi larutan koagulan dengan laju alir yang diatur menggunakan *syringe pump*. Proses pembuatan dilakukan dengan variasi laju alir 10-50 mL/jam, dengan laju alir 10 mL/jam dipilih sebagai kondisi optimal karena menghasilkan serat yang lebih homogen, kontinu, dan stabil. Serat yang terbentuk kemudian dikumpulkan dan dianyam membentuk penutup luka berbasis serat. Serat yang diperoleh selanjutnya dipaut silang dengan cara merendamnya selama 4 jam

dalam larutan campuran tripolifosfat (TPP) 0,05 M dan glutaraldehid 0,025 M. Setelah proses paut silang, kelebihan larutan pengikat silang dihilangkan dengan mencuci serat menggunakan air murni. Serat kemudian disimpan pada suhu ruang hingga benar-benar kering.

Pemuatan kompleks inklusi AMB/HP- γ -CD ke dalam anyaman serat. Kompleks inklusi AMB/HP- γ -CD ditimbang sebanyak 0,5 gram, kemudian didispersikan ke dalam 2 mL metanol 50% di bawah pengadukan magnetik secara kontinu selama 5 menit hingga diperoleh pasta yang homogen. Anyaman serat PVA/kitosan yang telah dikeringkan dan diikat silang selanjutnya ditimbang dan direndam dalam pasta tersebut hingga penyerapan berlangsung secara maksimal pada suhu 25 ± 2 °C selama 24 jam dalam kondisi gelap. Setelah proses perendaman selesai, sampel diangkat dengan hati-hati, ditiriskan menggunakan kertas saring untuk menghilangkan kelebihan larutan, dan dikeringkan pada suhu ruang hingga pelarut menguap sempurna. Anyaman serat yang telah dimuat obat selanjutnya ditimbang kembali untuk mengetahui perubahan massa akibat proses pemuatan. Sampel kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat hingga pengujian lebih lanjut dilakukan.



Gambar 1. Skema proses pembuatan serat PVA/kitosan melalui metode *wet spinning*.

2.3.6 Evaluasi Sifat Mekanik

Pengujian ini dilakukan pada serat yang belum dianyam dan dilakukan untuk mengetahui seberapa kuat, elastis, dan mudahnya serat putus. Suhu ruangan diatur pada 25°C. Gaya diukur dalam satuan MPa. Sampel serat dipasang pada kedua ujung klamp dengan panjang serat ± 6 cm. Hasil dari pengujian diambil dari rata-rata tiga kali pengukuran untuk setiap sampel.

2.3.7 Uji Pelepasan *In Vitro*

Serat yang mengandung AMB/HP- γ -CD dibungkus dengan membran selofan dan diisi 5 mL PBS pH 7,4 kemudian membran tersebut direndam dalam 45 mL PBS pH 7,4 di dalam *falcon tube*, sehingga total volume sistem pelepasan menjadi 50 mL.

Selanjutnya, *falcon tube* tersebut ditempatkan dalam inkubator *orbital shaker* dengan kecepatan 100 rpm pada suhu 37°C selama tujuh hari berturut-turut. Pada hari pertama, 1 mL sampel diambil setiap 6 jam dan volume yang diambil digantikan dengan media segar. Kemudian, setiap 24 jam, sampel diambil untuk dianalisis dan diukur dengan spektrofotometri uv-vis pada panjang gelombang absorbansi maksimum AMB. Pelepasan obat dievaluasi dalam tiga kali replikasi (Herculano, dos Reis, et al ., 2024).

2.3.8 Karakteristik Fisikokimia

Fourier-transform infrared (FT-IR). Spektroskopi *Fourier-transform infrared* (FTIR) dilakukan menggunakan spektrofotometer Frontier MIR/NIR (PerkinElmer, Waltham, MA USA) dengan mode *attenuated total reflectance* (ATR) yang memindai rentang 4000 cm⁻¹ hingga 400 cm⁻¹. Untuk setiap analisis, 32 pemindaian diambil pada resolusi 2 cm⁻¹ untuk mengkarakterisasi puncak serapan polimer dan obat (Pasiczna-Patkowska et al ., 2025).

Differential Scanning Calorimetry (DSC). Karakterisasi sifat termal sampel dilakukan menggunakan *Differential Scanning Calorimetry* (DSC Q20®, TA Instruments, USA). Sebanyak ±5–10 mg sampel ditimbang secara akurat dan dimasukkan ke dalam pan aluminium tertutup. Pengukuran dilakukan di bawah aliran nitrogen dengan laju pemanasan konstan 10 °C/menit pada rentang suhu 50–400 °C (Himawan et al ., 2023).

Thermogravimetric Analysis (TGA). Stabilitas termal dan perilaku degradasi sampel dianalisis menggunakan *Thermogravimetric Analysis* (TGA Q50®, TA Instruments, USA). Sampel sebanyak ±5–10 mg ditempatkan dalam pan aluminium terbuka, kemudian dipanaskan dari suhu ruang hingga 400 °C dengan laju pemanasan 10 °C/menit di bawah atmosfer nitrogen. Perubahan massa sebagai fungsi suhu direkam secara kontinu (Himawan et al ., 2023).

Scanning Electron Microscopy (SEM). Sampel serat dari setiap formulasi diperiksa dengan Scanning Electron Microscopy (SEM) untuk menganalisis morfologi permukaan dan potong-lintang sediaan (Himawan et al ., 2023).

Water-Holding Capacity (WHC). Untuk menilai kapasitas menahan air, prosedur yang diusulkan oleh (Zhang et al ., 2008) diikuti dengan beberapa modifikasi. Serat PVA/kitosan yang telah dipaut silang dan dikeringkan dan belum dimuat dengan obat ditimbang (W_{dry}). Semua serat direndam dalam larutan penyangga *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pada pH 7,4 selama 24 jam. Selanjutnya, serat disentrifugasi pada 4000 rpm selama 5 menit untuk menghilangkan kelebihan (PBS); selanjutnya berat basah serat (W_{wet}) ditentukan. Setiap jenis serat diuji tiga (3) kali, dan kapasitas menahan air dihitung berdasarkan persamaan persamaan 2 (Vega-Cázarez et al ., 2018).

$$WHC = \left[\frac{W_{wet} - W_{dry}}{W_{dry}} \right] \times 100 \quad \dots\dots\dots (2)$$

W_{wet} = berat basah serat

W_{dry} = berat kering serat

Uji swelling/pengembangan. Kapasitas pengembangan pada serat dievaluasi dengan menggunakan metode yang diusulkan oleh (Falguni Pati, Basudam Adhikari, 2010) dengan beberapa modifikasi. Sampel (0,1 g) masing-masing serat ditimbang bobot awal (m_0) dan direndam dalam larutan penyangga *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pada pH 7,4 hingga tercapai kejenuhan. Sampel serat kemudian ditimbang bobot akhir (m_1) setelah menghilangkan kelebihan air permukaan menggunakan kertas penyerap. Selama pengujian, serat ditimbang dengan interval (0.5, 1, 2, 4, 8 dan 24 jam).

Rasio pembengkakan ditentukan dengan menggunakan persamaan 3.

$$\% \text{ swelling} = \left[\frac{m_1 - m_0}{m_0} \right] \times 100\% \quad \dots\dots\dots (3)$$

2.3.9 Uji Daya Hambat Anyaman Serat Pembalut Luka/*woven fibers*

Anyaman serat PVA/kitosan yang mengandung kompleks inklusi AMB/HP- γ -CD disimpan dalam cawan petri steril hingga digunakan. Uji aktivitas antijamur dilakukan menggunakan metode difusi agar dengan penempatan sampel langsung (*direct placement*), di mana *woven fibers* diletakkan secara langsung pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan suspensi *Candida albicans*, sebagai modifikasi dari metode disk diffusion konvensional. *Candida albicans* ATCC 14053 diremajakan pada media *potato dextrose agar* (PDA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, suspensi mikroba disiapkan dan disesuaikan hingga mencapai konsentrasi sekitar $1-5 \times 10^6$ CFU/mL. *Cotton swab* steril dicelupkan ke dalam suspensi *C. albicans* tersebut, kemudian digoreskan secara merata pada seluruh permukaan media PDA. Sampel diletakkan di atas permukaan media PDA yang telah diinokulasi. Selanjutnya, cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 7 hari. Pengamatan dilakukan setiap 24 jam untuk mengevaluasi terbentuknya zona hambat pertumbuhan jamur di sekitar sampel uji. Diameter zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dan dicatat sebagai indikator aktivitas antikandida.

2.3.10 Uji Hemolisis

Uji hemolisis dilakukan untuk mengevaluasi hemokompatibilitas serat P6C4 dan serbuk kompleks inklusi IC-SE-1 terhadap sel darah merah tikus Wistar, mengacu pada panduan ISO 10993-4 dan ASTM F756-08. Darah segar diperoleh melalui pengambilan intrakardiak dan ditampung dalam tabung EDTA untuk mencegah koagulasi. Eritrosit dipisahkan dengan sentrifugasi pada 2.000 rpm selama 20 menit, dicuci tiga kali menggunakan NaCl 0,9%, kemudian diresuspensikan dalam NaCl 0,9% hingga konsentrasi akhir 10% v/v. Sampel uji berupa serat P6C4 dan serbuk IC-SE-1 masing-masing disuspensikan dalam NaCl 0,9% pada konsentrasi 5, 50, dan 500 $\mu\text{g/mL}$. Sebanyak 100 μL suspensi eritrosit ditambahkan ke dalam 900 μL larutan sampel, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 60 menit menggunakan *dehydrator*, kemudian disentrifugasi pada 7.000 rpm selama 10 menit. Absorbansi supernatan diukur menggunakan *microplate reader* (FLUOstar Omega, BMG Labtech, Jerman) pada panjang gelombang 540 nm. Air murni dan NaCl 0,9% digunakan masing-masing sebagai kontrol positif dan negatif. Karena AMB memiliki serapan residual pada 540 nm, blanko AMB pada konsentrasi setara disiapkan dan dikurangi dari absorbansi sampel sebelum perhitungan. Persentase hemolisis dihitung menggunakan persamaan :

$$\text{Hemolisis (\%)} = \frac{\text{absorbansi (sampel)} - \text{absorbansi (kontrol negatif)}}{\text{Absorbansi (kontrol positif)} - \text{absorbansi (kontrol negatif)}} \times 100\% \dots\dots\dots (4)$$

Material dikategorikan tidak hemolitik (<5%), hemolisis ringan (5–10%), atau hemolitik (>10%) sesuai kriteria ASTM F756-08 (Ananda et al., 2021). Seluruh percobaan dilakukan secara triplo.

2.3.11 Pengumpulan Data dan Analisis Data

Analisis statistik dilakukan menggunakan GraphPad Prism (versi 10.0). Perbedaan antara dua kelompok dianalisis menggunakan uji t, sedangkan perbandingan lebih dari dua kelompok dianalisis menggunakan one-way ANOVA. Nilai $p < 0,05$ dianggap menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik. Data yang diperoleh akan diproses menggunakan perangkat lunak Origin Pro guna menghasilkan visualisasi grafis yang informatif dan memperjelas hubungan antar variabel yang diteliti.