



## Formulasi dan Aktivitas Gel HPMC-Kitosan Terhadap Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIA Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar

Weka SidhaBhagawan<sup>1</sup>, Desi Kusumawati<sup>2</sup>, RahmiAnnisa<sup>3</sup>, DioniFadiaZatalini<sup>4</sup>

Program Studi Farmasi, Universitas PGRI Madiun, Indonesia<sup>1,2</sup>

Program Studi Farmasi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Indonesia<sup>3,4</sup>

Email: weka.sidha@unipma.ac.id<sup>1</sup>, desi@unipma.ac.id<sup>2</sup>, apt.rahmiannisa@gmail.com<sup>3</sup>, defaza94@gmail.com<sup>4</sup>

### Abstrak

Kitosan merupakan produk turunan dari polimer chitin yaitu produk limbah dari kulit udang atau rajungan yang dapat membantu penyembuhan luka bakar. Kitosan telah diteliti mampu memacu proliferasi sel, meningkatkan kolagenisasi, dan mengakselerasi regenerasi sel (reepilelisasi) pada kulit yang terluka, serta dapat memacu migrasi sel PMN. Peningkatan kontraksi luka bakar dapat dilakukan dengan meningkatkan penggunaan pada kulit dengan memformulasikan dalam sediaan gel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh optimasi variasi konsentrasi HPMC dan kitosan di dalam gel terhadap sifat fisik, stabilitas fisik dan aktivitas gel kitosan terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat IIA pada tikus putih. Desain penelitian menggunakan true experimental post test dilakukan terhadap hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar. Sampel di bagi dalam enam kelompok yaitu 4 pelakuan kitosan: konsentrasi 0%, 1,25%, 2,5%, 3,75% dan kelompok kontrol dengan bioplacenton dan normal saline 0,9%. Data yang diukur adalah kontraksi luka pasca perawatan luka selama 21 hari. Hasil penelitian sifat fisik gel menunjukkan dengan peningkatan konsentrasi kitosan dapat meningkatkan viskositas gel, pH dan menurunkan daya sebar gel, namun tidak mempengaruhi organoleptis dan homogenitas sediaan gel. Hasil uji stabilitas fisik gel menunjukkan bahwa adanya variasi konsentrasi kitosan gel sedikit stabil selama penyimpanan. Sedangkan peningkatan konsentrasi HPMC meningkatkan viskositas dan menurunkan daya sebar gel, namun tidak mempengaruhi organoleptis, homogenitas dan pH gel. Analisa data menggunakan one way ANOVA dilanjutkan dengan uji Tuckey HSD. Pemberian gel kitosan dosis 1,25% dan 2,5% signifikan mempercepat penyembuhan luka bakar dibandingkan dengan kontrol normal saline 0,9% ( $p=0,000$ ;  $p=0,000$ ) dan tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif ( $p=1,000$ ;  $p=0,256$ ). Gel kitosan 2,5% paling signifikan mempercepat penyembuhan luka dibandingkan dengan kitosan 1,25% ( $p=0,356$ ). Penelitian ini membuktikan bahwa dosis gel kitosan terbaik adalah 2,5%.

**Kata Kunci:** kitosan; luka bakar; kontraksi luka; HPMC; sediaan gel

### Abstract

*Chitosan is a derivative product of chitin polymer which is a waste product from shrimp shell or crab that can help heal burns. Chitosan has been studied to spur cell proliferation, increase collagenization, and accelerate cell regeneration (palletization) in*

*injured skin, and can stimulate migration of PMN cells. Increased contraction of burns can be done by increasing the use of the skin by formulating in the gel preparation. This study aims to determine the effect of optimization of HPMC and chitosan concentration variations in gel on physical properties, physical stability and chitosan gel activity toward healing process of IIA-degree burn in white rat. This research uses true experimental design, posttest is done on white rats try (*Rattusnorvegicus*) Wistar Strain. Samples were divided into six groups: 4 chitosan: concentration 0%, 1.25%, 2.5%, 3.75% and control group with Bioplacenton and normal saline 0.9%. The measured data was wound contraction after wound care for 21 days. The results of the physical properties of the gel showed that increased chitosan concentration may help increase gel viscosity, pH and reduce gel dissolvability, but did not affect the organoleptic and gel homogeneity. The result of gel physical stability test showed that the variation of chitosan gel concentration was slightly stable during storage. While increasing HPMC concentrations increases viscosity and reduces the gel dissolvability, it does not affect organoleptic, homogeneity and gel pH. Data analysis was done using one way ANOVA followed by Tuckey test. 1.25% and 2.5% significantly decreased wound healing compared with normal control saline 0,9% ( $p = 0,000$ ;  $p = 0.000$ ) and did not differ significantly with positive control ( $p = 1,000$ ;  $p = 0,256$ ). 2.5% chitosan gel most significantly accelerated wound healing compared with chitosan 1.25% ( $p = 0.356$ ). This study proves that the best chitosan gel dose is 2.5%.*

**Keywords:** *chitosan, burns, wound contraction, HPMC, gel preparation*

**How To Cite :** Fatmawati, U.: (2020). Pemahaman covid-19 dan dampaknya terhadap proses pembelajaran daring selama pandemi bagi mahasiswa Prodi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan dan Sains Universitas PGRI Madiun. **Prosiding SENFIKS (Seminar Nasional Fakultas Ilmu Kesehatan dan Sains), 1 (1), 67-79.**

## PENDAHULUAN

Luka bakar (*combustio*) adalah kerusakan atau kehilangan jaringan akibat kontak dengan sumber panas seperti api, air panas, bahan kimia, listrik, dan radiasi (Minami et al., 1999). Luka bakar adalah cedera sistemik yang kompleks mengikuti kulit yang terpapar energi panas, mengikuti cedera panas, kulit mengalami tiga urutan fase cedera: cedera fisik, cedera biokimia dan respon penolakan jaringan nekrotik (Xu, 2004).

Insiden luka bakar di RSCM pada tahun 2012 sejumlah 27,6%, dan jumlah kasus luka bakar mengalami peningkatan dari 76 kasus pada tahun 2005 menjadi 82 kasus pada tahun 2006 di RSUP Dr. Sardjito. Luka bakar paling sering terjadi di rumah dan yang ditemukan terbanyak adalah luka bakar derajat II.

Salah satu bahan alami yang dapat membantu penyembuhan luka adalah kitosan. Kitosan merupakan produk turunan dari polimer chitin yaitu produk limbah dari kulit udang atau rajungan yang diperoleh dari pengolahan industri perikanan. Kitosan dipilih dalam penelitian ini karena pada bidang kesehatan kitosan digunakan sebagai agen antiobesitas, antibakteria, antiperdarahan dan penyembuhan luka. Kitosan diteliti mampu memacu proliferasi sel, meningkatkan kolagenisasi dan mengakselerasi regenerasi sel (reepitelisasi) pada kulit terluka (Shelma et al., 2008). Kitosan telah diteliti mampu memacu proliferasi sel, meningkatkan kolagenisasi, dan mengakselerasi regenerasi sel (reepilelisasi) pada kulit yang terluka, serta dapat memacu migrasi sel PMN (Jin et al., 2007; Wardono et al., 2012).

Formulasi gel membutuhkan senyawa gelling agent sebagai bahan pembentuk gel. HPMC (hidroksipropil metilselulose) adalah turunan selulosa eter semisintetik yang telah digunakan secara luas sebagai polimer hidrofilik dalam sistem pemberian obat oral dan topikal [18]. Pemilihan basis HPMC dikarenakan penampakan gel jernih dan kompatibel dengan bahan-bahan lain, kecuali *oxidative materials* serta dapat mengembang terbatas dalam air sehingga merupakan bahan pembentuk hidrogel yang baik (Arikumalasari et al., 2013; Gibson, 2009). Keunggulan HPMC yaitu membentuk gel yang bening, mudah larut dalam air, bersifat netral, viskositas stabil dan resisten terhadap pertumbuhan mikroba (Rowe, 2013).

Kitosan dalam bentuk sediaan salep telah diteliti mempunyai pengaruh terhadap percepatan proses penyembuhan luka bakar kimiawi, sehingga diduga pemberian gel HPMC-kitosan juga bisa berpengaruh terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat IIA.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan kitosan terhadap sifat fisik gel HPMC-kitosan terhadap persyaratan stabilitas fisik gel dan pengaruhnya terhadap penyembuhan luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus novergicus*) galur wistar.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini HPMC, propilen glikol, metil paraben, propil paraben, masing-masing kualitas farmasetis dan diperoleh dari PT Brataco, kitosan udang, aquades, asam asetat 2%, buffer asetat pH 5, NaCl 0,9%, bioplacenton, kloroform, ketamin, xylazin, *cotton bud*, alkohol 70%, kassa, plester, kertas milimeter block, tikus jamtan galur wistar umur 2-2,5 bulan dengan berat 150-200 gram, pakan dan minum tikus.

### Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik (Ohaus Pioneer PA214), Viskometer (Brookfield DV-1), mortir, stemper, kulkas, pH meter (Mettler Toledo), beaker gelas 50, 100 dan 250 mL (Pyrex), batang pengaduk, spatula, sendok, gelas objek, cawan petri, bunsen, pipet tetes, labu ukur, oven (Memmert UNB-400), kaca preparat, kaki tiga, anak timbangan, alat perawatan luka, uang logam (Rp 500), spuit (2cc), penggaris, gunting, sarung tangan, dan kamera (14Mpixel).

### Pembuatan buffer asetat pH 5

Asam asetat 1,25 mL dilarutkan dalam 100 mL aquades (larutan A). 2,7 g natrium asetat dalam 100 mL aquades (larutan B). Kemudian larutan A diambil 30 mL dan larutan B 70 mL dan dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dikocok hingga homogen.

### Pembuatan bahan uji

Pembuatan gel HPMC-kitosan adalah sebagai berikut:  
Pembuatan optimasi gelling agent HPMC pada gel kitosan

Gel diformulasikan sesuai komposisi pada tabel 1, ditimbang masing-masing bahan. HPMC didispersikan dalam air hangat bebas CO<sub>2</sub> didalam mortal dan didiamkan selama 15 menit hingga mengembang lalu diaduk pelan hingga larut dan terbentuk massa gel yang baik dan jernih. Kitosan dilarutkan dengan asam asetat 2% (1:3) dikembangkan selama 15 menit hingga mengembang dan aduk hingga homogen. Propil paraben dan metil paraben dilarutkan dahulu dengan propilen glikol dengan sedikit pemanasan. Campuran tersebut dimasukkan dalam kombinasi basis sedikit demi sedikit dan diaduk sampai homogen. Selanjutnya ditambah buffer asetat pH 5 hingga didapat massa sediaan 30 gram. Sediaan gel yang telah jadi lalu dikemas dalam tube dan ditutup rapat.

#### Pembuatan gel HPMC-kitosan

Gel diformulasikan sesuai komposisi pada tabel 2, ditimbang masing-masing bahan. HPMC yang didapat dari optimasi didispersikan dalam air hangat bebas CO<sub>2</sub> didalam mortal dan didiamkan selama 15 menit hingga mengembang lalu diaduk pelan hingga larut dan terbentuk massa gel yang baik dan jernih. Kitosan dilarutkan dengan asam asetat 2% (1:3) dikembangkan selama 15 menit hingga mengembang dan aduk hingga homogen. Propil paraben dan metil paraben dilarutkan dahulu dengan propilen glikol dengan sedikit pemanasan. Campuran tersebut dimasukkan dalam kombinasi basis sedikit demi sedikit dan diaduk sampai homogen. Selanjutnya ditambah buffer asetat pH 5 hingga didapat massa sediaan 30 gram. Sediaan gel yang telah jadi lalu dikemas dalam tube dan ditutup rapat.

#### Pembuatan luka bakar derajat IIA

Buku tikus dicukur terlebih dahulu hingga terlihat bagian kulit. Area kulit yang akan dibuat luka bakar didisinfeksi, tunggu sampai alkohol kering. Anestesi dilakukan pada paha tikus menggunakan kombinasi ketamin dan xylazin (2:1)/BB. Koin logam dengan diameter 24 mm dilapisi dan dibungkus kassa dicelupkan pada air panas (98<sup>0</sup>C) selama 3 menit. Kassa diangkat lalu luka dikompres dengan aquades selama 1 menit untuk mencegah luka bakar menyebar atau bertambah parah.

#### Perawatan luka bakar derajat IIA

Kelompok perlakuan luka dibersihkan dahulu menggunakan normal salin kemudian diolesi gel HPMC-kitosan konsentrasi 1,25%, 2,5% dan 3,75%.

Setelah itu luka ditutup dengan kassa steril dan diplester. Kelompok kontrol positif diberi perlakuan Bioplasenton dan kontrol negatif dibersihkan dengan normal salin 0,9% saja lalu ditutup dengan kassa steril.

#### Metode pengumpulan data

Pengukuran kontraksi luka diamati selama 21 hari meliputi hari ke-7, 14, dan 21. Hasil kontraksi diukur dengan penggaris dan difoto menggunakan kamera 14 *Mpixel* dan dihitung menggunakan software *Image J*.

#### Analisis data

Hasil penelitian dianalisis dengan program IBM<sup>®</sup> SPSS<sup>®</sup> Statistics 20 dengan uji normalitas data menggunakan *Kolomogorov-Smirnov*, uji homogenitas menggunakan *test of homogeneity of variance*, *One-Way ANOVA*, dan uji *post hoc Tukey HSD*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Sifat fisik optimasi gel kitosan dengan basis HPMC

#### Uji organoleptis

Pemeriksaan organoleptis sediaan gel dilakukan secara visual meliputi warna, bau, dan konsistensi (Handayani et al., 2012). Berdasarkan tabel 3 dapat terlihat bahwa warna yang dihasilkan oleh gel kitosan adalah bening pada konsentrasi 5%, 10%, dan 15% sehingga konsentrasi HPMC tidak mempengaruhi warna dari sediaan. Bau khas (aromatis) berasal dari kitosan yang memiliki bau khas. Pada gel berbentuk kental, berstruktur halus ini dikarenakan pemberian HPMC yang berfungsi sebagai *gelling agent* yang didispersikan pada air (Handayani et al., 2012).

**Tabel 1.** Formulasi Gel dengan Variasi Basis

Bahan	Formula (%)		
	F1	F2	F3
Chitosan	2,5	2,5	2,5
HPMC	5	10	15
Methyl parabens	0,02	0,02	0,02
Propyl parabens	0,18	0,18	0,18
Asam asetat 2%	7,5	7,5	7,5
Propylene glycol	15	15	15
Aquades	50	50	50
Buffer asetat pH 5 (add)	100	100	100

**Tabel 2.** Formulasi Gel dengan Variasi Konsentrasi Kitosan

Bahan	Formula (%)		
	FA	FB	FC
Chitosan	1,25	2,5	3,75
HPMC	5	5	5
Methyl parabens	0,02	0,02	0,02
Propyl parabens	0,18	0,18	0,18
Propylene glycol	15	15	15
Asamasetat 2%	3,75	7,5	11,25
Aquades	50	50	50
Buffer asetat pH 5 (add)	100	100	100

**Tabel 3.** Karakteristik Gel Kitosan pada Optimasi HPMC

Sifat Fisik	Formula		
	F1	F2	F3
Warna	Bening	Bening	Bening
Bau	Tidakberbau	Khas kitosan	Kas kitosan
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen
pH	5,4	5,4	5,4
Viskositas	3391	5794	8114
Dayasebar	6,2	5,93	5,63

**Tabel 4.** Karakteristik Gel Kitosan

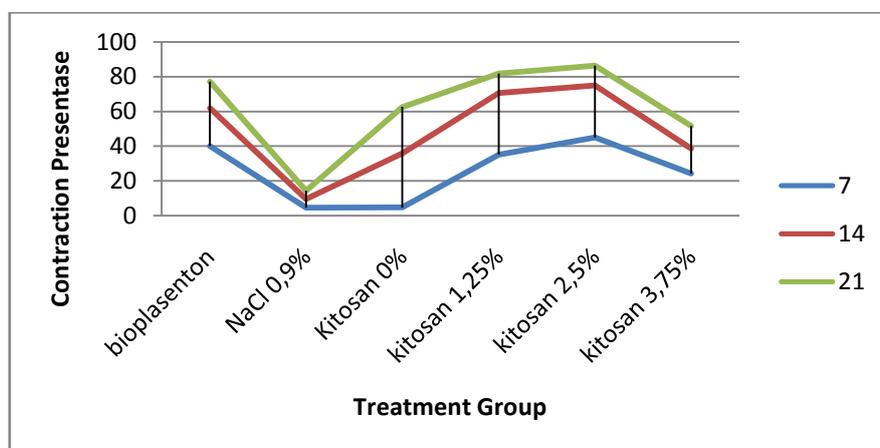
<i>Physical Properties</i>	Formula		
	FA	FB	FC
<i>Colour</i>	Bening	Bening	Keruh
<i>Odor</i>	Tidakberbau	Khas kitosan	Khas kitosan
<i>Homogeneity</i>	Homogen	Homogen	Homogen
<i>pH</i>	5,56	5,66	5,72
<i>Viscosity</i>	2,695	4087	4946
<i>Spreading Power</i>	6,5	5,47	4,1

**Tabel 5.** Hasil Gel Kitosan Sebelum dan Sesudah *Cycling Test*

Test Type	Sebelum <i>Cycling Test</i>			Sesudah <i>Cycling Test</i>		
	Gel 1,25%	Gel 2,5%	Gel 3,75%	Gel 1,25%	Gel 2,5%	Gel 3,75%
pH	5,56	5,66	5,72	6,24	6,38	6,58
DayaSebar	6,5	5,47	4,1	6,67	5,87	4,5
Viskositas	2692	4083	4946	2550	3718	4866

**Tabel 6.** Persentase Kontraksi Luka Bakar (%)

Perlakuan	Hari		
	7	14	21
Bioplacenton	40,08	61,77	77,14
NaCl 0,9%	4,540	9,590	14,260
Chitosan 0%	4,640	35,830	62,530
Chitosan 1,25%	35,00	70,53	81,67
Chitosan 2,5%	45,010	74,850	86,360
Chitosan 3,75%	24,220	38,550	51,590



**Gambar 1.** Persentase Kontraksi Luka Bakar



**Gambar 2.** Luka Bakar Derajat IIA

#### Uji homogenitas

Salah satu syarat sediaan gel adalah homogen. Syarat homogenitas tidak boleh mengandung bahan kasar yang bisa diraba (Syamsuni, 2006). Berdasarkan hasil dapat dikatakan bahwa semua gel memiliki distribusi yang merata ketika diberi tekanan pada kaca, sehingga semua gel dapat dikatakan memiliki homogenitas yang baik.

#### Uji pH

Pengukuran pH sangat penting dalam pembuatan sediaan topikal untuk mengetahui kesesuaian gel dengan pH kulit. Berdasarkan Tabel 3. pada setiap masing-masing konsentrasi gel memiliki hasil pH yang sama. Pada sediaan gel kitosan dengan adanya variasi konsentrasi *gelling agent* tidak mempengaruhi perubahan pH. Semua formula memiliki pH yang sama yaitu 5,4, dalam artian masih dalam range pH normal kulit sehingga bila digunakan akan meningkatkan kenyamanan pada kulit dengan luka bakar. Ini dikarenakan sifat dari HPMC yang netral, tahan terhadap pengaruh asam dan basa sehingga dapat menjaga kestabilan pH gel (Rowe, 2013).

#### Uji daya sebar

Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui persebaran sediaan pada permukaan kulit. Uji ini dilakukan dengan mengambil 1 gram sediaan, kemudian sediaan di beri beban 50 gram, 100 gram dan 150 gram secara berurutan. Berdasarkan Tabel 3. dapat dilihat bahwa semakin berat beban yang diberikan semakin lebar diameter sebaran sediaan serta dapat dilihat pula semakin besar konsentrasi HPMC pada gel semakin kecil diameter sebaran sediaan. Dapat diinterpretasikan bahwa semakin banyak konsentrasi HPMC yang diberikan, sediaan gel semakin memiliki konsistensi

yang lebih kental. Hal ini dapat mempengaruhi kualitas sediaan gel (Arikumalasari et al., 2013). Sifat mudah menyebar karena gel memiliki komponen yang banyak mengandung gugus -OH seperti HPMC dan polipilen glikol.

#### Uji viskositas

Uji viskositas dilakukan untuk mengetahui mudah tidaknya obat diolesi pada kulit, semakin rendah nilai viskositas maka semakin mudah obat dioleskan pada permukaan kulit. Uji viskositas ini dilakukan dengan menggunakan alat *Brookfield Dial Viscometer* dengan rpm 5 dan cone CP-42. Semakin besar konsentrasi HPMC yang digunakan maka sediaan akan semakin kental. HPMC membentuk gel dengan mengabsorpsi pelarut dan menahan cairan tersebut dengan membentuk massa cair yang kompak. Meningkatnya jumlah HPMC yang digunakan maka akan semakin banyak cairan yang tertahan dan diikat oleh HPMC, berarti viskositas meningkat (Arikumalasari et al., 2013). Nilai viskositas sediaan gel yang baik yaitu 2000-4000 cP (Garg et al., 2002).

#### **Sifat fisik optimasi gel dengan variasi kitosan**

##### Uji organoleptis

Gel dengan konsentrasi kitosan 1,25% dan 2,5% menghasilkan warna yang bening sedangkan pada konsentrasi 3,75% memiliki warna putih keruh. Warna keruh yang dihasilkan dikarenakan kitosan sendiri memiliki warna keruh setelah dilarutkan dengan asam asetat 2% sehingga semakin tinggi kitosan yang ditambahkan akan menghasilkan warna yang keruh pada gel, bau khas (aromatis) berasal dari kitosan yang memiliki bau khas.

##### Uji homogenitas

Hasil uji homogenitas menunjukkan tidak adanya pengaruh variasi konsentrasi kitosan terhadap homogenitas gel. Kitosan berbentuk spesifik dan mengandung gugus amino dalam rantai karbonnya. Hal ini menyebabkan kitosan bermuatan positif yang berlawanan dengan polisakarida lainnya (Rinaudo, 2006). Sedangkan HPMC merupakan *gelling agent* yang termasuk ke dalam golongan polisakarida yang bersifat kationik (Gibson, 2009).

#### Uji pH

Berdasarkan hasil pengujian gel kitosan yang telah dibuat menunjukkan bahwa gel kitosan cenderung memiliki pH asam. Hal ini dikarenakan bahan dasar penyusun gel yang dihasilkan adalah kitosan yang bersifat asam karena dilarutkan menggunakan asam asetat 2%. Semakin tinggi konsentrasi kitosan yang digunakan maka asam asetat 2% yang ditambahkan juga semakin banyak. Kitosan larut pada kebanyakan larutan asam organik pada pH sekitar 4,0, tetapi tidak larut pada pH lebih besar dari 6.5 (Thomas et al., 2020).

#### Uji daya sebar

Dari tabel 4 dapat dilihat hasil pengukuran daya sebar gel kitosan menunjukkan bahwa respon daya sebar pada variasi konsentrasi kitosan menghasilkan respon daya sebar yang berbeda pada setiap formula. Berdasarkan grafik diatas dapat dilihat bahwa, perbedaan dari tinggi dan rendahnya konsentrasi kitosan memberikan pengaruh terhadap daya sebar gel. Secara kuantitatif, besar efek perbedaan konsentrasi kitosan (1,25%, 2,5%, dan 3,75%) terhadap daya sebar gel berturut turut yaitu sebesar 6,67, 5,87, 4,5 (cm). Pada konsentrasi kitosan yang lebih tinggi respon daya sebar mengalami penurunan, maupun sebaliknya.

#### Uji viskositas

Hasil pengukuran viskositas gel kitosan menunjukkan respon viskositas gel pada berbagai konsentrasi kitosan menghasilkan respon viskositas yang berbeda. Hasil viskositas gel kitosan dapat dilihat pada Tabel 4. Semakin tinggi konsentrasi kitosan maka viskositasnya akan semakin tinggi, sebaliknya, semakin rendah konsentrasi kitosan maka viskositasnya akan menurun. Kekentalan gel kitosan ini juga disebabkan karena kitosan memiliki kemampuan untuk membentuk gel. Kitosan bersifat hidrofilik, menahan air dalam strukturnya dan membentuk gel secara spontan. Pembentukan gel berlangsung pada harga pH asam dan sedikit asam, disebabkan sifat kationik kitosan (Thomas et al., 2020). Kitosan yang memiliki sifat reaktivitas kimia menyebabkan kitosan mampu mengikat air dan minyak. Hal ini didukung oleh adanya gugus polar dan non polar yang dikandungnya.

#### Stabilitas sediaan gel kitosan setelah *freeze thaw cycle*

*Cycling test* merupakan uji stabilitas yang dipercepat sebagai simulasi suhu dalam setiap tahun maupun setiap harinya selama penyimpanan sediaan. Penyimpanan pada kondisi ekstrim (Suhu *freeze*  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam dan suhu *thaw*  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam mampu menginduksi terjadinya ketidakstabilan lebih cepat daripada penyimpanan pada suhu ruangan (Thanasukarn et al., 2004). Pengujian dilakukan dengan 7 siklus (14 hari), uji dilakukan sebelum dan sesudah *cycling test*.

#### Organoleptis setelah *cycling test*

Pada pengujian stabilitas selama *freeze thaw cycle* secara organoleptis tidak terjadi perubahan baik warna gel, bau dan tekstur dari gel kitosan. Selain itu tidak terjadi pemisahan fase pada gel kitosan. Setelah dilakukan uji *Cycling test* bau sediaan tidak mengalami perubahan yang signifikan, namun bau dari asam asetat

sedikit berkurang dikarenakan asam asetat mempunyai sifat volatil atau menguap. Hasil ini menunjukkan bahwa menggunakan gel kitosan dan HPMC mampu menghasilkan gel yang stabil secara organoleptis.

#### Homogenitas setelah *cycling test*

Hasil homogenitas sediaan gel kitosan setelah *Cycling test* adalah tidak terdapat perubahan pada semua formula. Tidak ada bagian yang menggumpal maupun memisah. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan gel kitosan dan HPMC mampu menghasilkan gel yang stabil secara homogenitas.

#### pH setelah *cycling test*

Berdasarkan Tabel 5 menunjukkan bahwa pH sediaan kitosan mengalami perubahan menjadi basa setelah dilakukan *Cycling Test*. Hal ini disebabkan karena kadar asam asetat 2% dan buffer asetat mengalami penguapan selama penyimpanan sehingga menyebabkan pH sediaan menjadi meningkat mendekati pH netral. Perubahan pH sediaan gel kitosan ini masih dalam rentang syarat sediaan yang baik yaitu 4,5-6,5 (Arikumalasari et al., 2013). Namun pada sediaan kitosan 3,75% perubahan pH yang dihasilkan melebihi rentang sediaan yang baik dikarenakan kadar kitosan yang terlalu tinggi dan asam asetat yang digunakan juga banyak sehingga penguapan asam asetat juga tinggi.

#### Daya sebar setelah *cycling test*

Berdasarkan grafik diatas dapat dilihat bahwa, perbedaan tinggi dan rendahnya konsentrasi kitosan memberikan pengaruh terhadap daya sebar gel. Pada konsentrasi kitosan yang lebih tinggi respon daya sebar mengalami penurunan, maupun sebaliknya. lama penyimpanan mempengaruhi daya sebar gel, semakin lama penyimpanan maka daya sebar gel menjadi meningkat, daya sebar yang tinggi dikarenakan oleh suhu

dan kemasan yang kurang kedap sehingga gel menyerap uap air dari luar dan menambah volume air dalam gel. Penambahan bahan-bahan lain seperti propilen glikol yang konsistensinya cair, dapat meningkatkan viskositas sediaan gel dan meningkatkan daya sebar gel. Daya sebar gel kitosan pada formula III tidak memenuhi persyaratan karena pada formula III daya sebar gel yang dihasilkan kurang dari 5 cm.

#### Viskositas setelah *cycling test*

Berdasarkan Tabel 5 dapat dilihat bahwa, fenomena pada respon viskositas gel berbanding terbalik dengan daya sebar gel. Terlihat adanya penurunan nilai viskositas gel sebelum dan sesudah uji *Cycling Test*. Faktor lingkungan yang lembab merupakan faktor yang memberikan pengaruh besar terhadap nilai kandungan air dalam kitosan karena kitosan memiliki sifat yang mudah menyerap air, sehingga apabila kitosan terlalu lama dalam penyimpanan dan berada pada kondisi yang lembab dan maka jumlah kadar air kitosan menjadi semakin meningkat dan menyebabkan viskositasnya semakin menurun (Jin et al., 2007).

#### Aktivitas gel kitosan secara *in vivo*

Pada akhir penelitian telah dilakukan pembuatan luka bakar derajat IIA pada kulit tikus putih yang diinduksi logam panas. Hasil akhir luka bakar memenuhi kriteria makroskopis luka bakar derajat IIA pada pengamatan setelah sehari tanpa perlakuan. Luka bakar derajat dua pada subyek tikus penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2. Pada penelitian ini kontrol positif yang digunakan adalah Bioplasenton. Kontrol negatif dimaksudkan untuk mengetahui kecepatan penyembuhan luka bakar tanpa dilakukan pemberian obat (tidak diberi perlakuan).

Tabel 6. Menunjukkan bahwa kelompok gel kitosan dosis 1,25%, 2,5% dan 3,75% signifikan mempercepat

penyempitan diameter luka dibandingkan kontrol negatif tanpa perlakuan dan kontrol negatif basis gel. Urutan pertama yaitu kitosan 2,5% dan menyusul di urutan kedua dan ketiga yang mempunyai perbedaan bermakna adalah gel kitosan 1,25% dan kitosan 3,75%.

Kontrol positif (Bioplasenton) memiliki perbedaan bermakna terhadap kelompok gel kitosan 3,75%. Pada uji Tuckey diketahui bahwa gel kitosan 2,5% terhadap kontraksi luka mempunyai perbedaan paling signifikan dibandingkan kontrol negatif tanpa perlakuan dan kelompok basis gel dengan nilai  $p=0,000$  dan  $p=0,000$ . Perbandingan presentase kontraksi luka bakar antar kelompok dapat dilihat pada gambar 1. Pada gambar ditampilkan lebih jelas manakah kelompok yang memiliki presentase kontraksi luka lebih tinggi dibandingkan kelompok lain.

Hasil rata-rata presentase penyembuhan luka bakar dari semua kelompok pada penelitian ini diolah dan dianalisis dengan menggunakan dua faktor list yaitu, presentase penyembuhan, waktu (hari) dan kelompok perlakuan. Oleh karena itu, dalam pengolahan dan penyajian terdiri dari tiga komponen yaitu, data rata-rata persentase penyembuhan, waktu dan kelompok perlakuan.

Perbandingan perkembangan rata-rata persentase penyembuhan luka bakar dari semua kelompok selama 21 hari dapat dilihat dari kurva yang disajikan pada gambar 1. Pada gambar 1. Ditampilkan lebih jelas tentang kelompok yang mempunyai peningkatan persentase penyembuhan lebih baik dan cepat dibandingkan kelompok lain. Data rata-rata persentase penyembuhan luka bakar dari semua kelompok, kemudian dianalisis dengan metode ANAVA satu arah dilanjutkan uji Tuckey.

Pada uji *One Way ANOVA* kontraksi luka hari ke-7, ke-14 dan hari ke-21 menghasilkan  $p-value$  0,000 yang kurang dari 0,05 pada tingkat kepercayaan

95% sehingga terdapat perbedaan secara signifikan kontraksi luka antara kelompok coba pada semua perlakuan. Berdasarkan hasil presentase kontraksi luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*), seluruh perlakuan pada tabel 6 menunjukkan hasil yang bervariasi. Kelompok kitosan 1,25% dan 2,5% menunjukkan hasil presentase kontraksi luka bakar yang lebih tinggi dibandingkan kontrol positif. Melalui data tersebut dapat disimpulkan bahwa bahan aktif kitosan mempunyai pengaruh terhadap peningkatan kontraksi luka bakar.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan hasil uji *One Way Anova* terhadap gel kitosan 1,25%, 2,5% dan 3,75% menghasilkan  $p-value$   $(0,000) \leq \alpha$   $(0,05)$ . Sehingga dapat dikatakan bahwa gel kitosan 1,25%, 2,5% dan 3,75% mempunyai efek yang signifikan terhadap peningkatan kontraksi luka bakar derajat IIA. Setelah dilakukan uji berganda menggunakan Uji *Post Hoc* metode *Tukey HSD* dengan tingkat kepercayaan 95% untuk menunjukkan kelompok mana yang mempunyai perbedaan satu sama lain. Hasil rata-rata kontraksi luka pada kelompok gel kitosan 1,25% dan 2,5% mengalami peningkatan dari hari ke-7 sampai hari ke-21. Peningkatan kontraksi luka menunjukkan luka sembuh dengan kriteria luka semakin mengecil, keropeng mengelupas, muncul granulasi dan terjadi epitelisasi. Kontraksi luka terjadi secara stimulan dengan epitelisasi (Minami et al., 1999). Rata-rata presentase kontraksi gel kitosan 3,75% lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif.

Pada kontrol positif, F1, F2, F3 dan F4 dengan kontrol negatif menunjukkan nilai  $p-value$  (0,00) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan sehingga, kontrol positif, F1, F2, F3 dan F4 dapat membantu penurunan diameter luka dan meningkatkan kontraksi luka. Perbandingan rata-rata kontraksi luka antara F3 dan F2 dengan kelompok positif tidak berbeda secara signifikan dengan  $p-$

$value \geq 0,05$ . Adanya perbedaan signifikan antara F1 dengan Kontrol positif, F1 dengan F4 dan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara F2 dan F3 menunjukkan bahwa gel kitosan 1,25% dan gel kitosan 2,5% memiliki pengaruh yang sama bagus dengan Bioplasenton dalam meningkatkan kontraksi luka bakar. Tidak adanya perbedaan signifikan antara F2 dengan F3 dan adanya perbedaan signifikan antara F1 dengan F2 menunjukkan bahwa gel kitosan 1,25% dan 2,5% lebih bagus daripada gel kitosan 3,75% dalam meningkatkan kontraksi luka bakar.

Hasil persentase kontraksi luka bakar pada hari ke- 21 gel kitosan 2,5% memiliki presentase yang lebih tinggi daripada kontrol positif (bioplasenton) dan gel kitosan 1,25%. Konsentrasi gel kitosan 2,5% memberikan pengaruh yang paling efektif dalam meningkatkan proses kontraksi luka. Hal ini diperkuat oleh penelitian sebelumnya tentang pengaruh salep kitosan secara topikal terhadap penyembuhan luka bakar kimiawi pada kulit *Rattus norvegicus* konsentrasi 1,25%, 2,5% dan 3,75%.

Kemampuan gel kitosan 2,5% yang lebih baik daripada gel kitosan 1,25% dikarenakan gel kitosan 1,25% mempunyai kemampuan menetralkan luka pada fase awal yang kurang dibanding kitosan 2,5%, karena prinsipnya semakin tinggi kadar yang bersifat basa (kitosan) maka semakin tinggi sifat basa pada gel tersebut. Luka yang sangat lebar pada gel kitosan 1,25% menjadikan penyembuhan lukanya lebih lama dan lebih lambat dalam kenaikan presentase penyembuhan luka dibandingkan kitosan 2,5% yang lebih kecil lukanya pada fase awal.

Kemampuan kitosan 2,5% persen yang lebih baik daripada gel kitosan 5% adalah kemungkinan karena kadar kitosan yang terkandung dalam gel kitosan 5% terlalu tinggi sehingga kurang mampu untuk memacu berbagai proses dalam jalur penyembuhan luka. Sesuai

penelitian sebelumnya bahwa kitosan semakin kecil kadarnya semakin memiliki kemampuan daya sembuh dalam memacu jalur-jalur penyembuhan. Kadar kitosan yang telah diteliti adalah dalam rentang antara 0,1%–5% untuk dosis topikal. Dosis yang lebih kecil pada kitosan 2,5% yang memiliki kemampuan lebih baik dibanding dosis 5%.

Jalur penyembuhan luka bakar pertama adalah menghentikan pada fase awal luka. Ini berdasarkan penelitian yang menyatakan bahwa larutan kitosan mampu menghentikan perdarahan secara komplet sehari setelah pembuatan luka dengan menumbuhkan sejumlah besar fibrin pada permukaan luka, dan setelah itu luka dengan cepat akan mengkerut. Kitosan adalah hemostat yang membantu pembekuan darah alami dan memblok akhir saraf untuk mengurangi nyeri (Shelma et al., 2008).

Jalur penyembuhan luka yang kedua adalah dengan memacu (akselerator) sel PMN (*polymorphonuclear*) pada fase awal luka (fase inflamasi). Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa mekanisme penyembuhan luka dapat dipercepat oleh kitin dan kitosan dengan memacu aktivitas dan akumulasi sel PMN. Hal ini terjadi karena aktivasi komplemen melalui *alternative pathway* atau jalur alternatif. Pada jalur ini, sejumlah *anaphylatoxins* (C3a dan C5a) akan diproduksi dan mengaktifasi PMN, sel *mononuclear* (MN), dan endotelium. Migrasi PMN dan MN terjadi segera setelah pemberian kitosan pada luka (Kumar, 2004).

Jalur penyembuhan luka bakar yang ketiga adalah dengan memediasi proses fagositosis atau mengaktifasi makrofag. Kitosan dan derivatnya menginduksi apoptosis pada peritoneal makrofag setelah pemberian *low-molecular soluble chitosan*. Kitosan adalah makrofag aktivator yang memediasi fagositosis dan mempercepat penyembuhan luka (Takashi, 1988).

Jalur penyembuhan luka bakar yang keempat adalah menstimulasi proliferasi sel (reepitelisasi) dan penyedia matriks non protein untuk pertumbuhan jaringan. Ketika fase proliferasi seluler yaitu fase terbentuknya granulasi jaringan baru dengan memproduksi kolagen dan protein matriks ekstraseluler yang lain, serta meningkatkan vaskularisasi ke luka untuk memberikan nutrisi yang dibutuhkan oleh sintesis protein. Kitosan menyediakan matriks non protein untuk pertumbuhan jaringan 3D dan mengaktifasi makrofag untuk aktifitas tumorisidal. Kitosan menstimulasi proliferasi sel dan mengorganisasikan jaringan *histoarchitectural*.

Jalur penyembuhan luka bakar yang kelima adalah meningkatkan kolagenisasi, fibroblas dan vaskularisasi (pembuluh darah). Hal ini berdasarkan penelitian yang menyatakan bahwa hewan yang diberi perlakuan *chitosan oligosaccharide* menunjukkan resolusi yang lebih cepat pada pembentukan pembuluh darah baru, induksi fibroblas yang lebih besar, dan berikutan produksi serat kolagen dibandingkan dengan kontrol (Jin et al., 2007). Kitosan akan melepas *N-acetyl-b-D-glucosamine* yang menginisiasi proliferasi fibroblast, membantu mengatur deposisi kolagen dan menstimulasi peningkatan level dari sintesis asam hialuronik alami pada luka. Ini membantu mempercepat penyembuhan luka dan mencegah bekas luka. Pada fase awal proses penyembuhan luka, makrofag mengeluarkan kolagenase dan elastase yang memproduksi kolagen dan melepaskan sitokin (Shelma et al., 2008). Selanjutnya pada fase remodeling, jaringan granulasi digantikan oleh kolagen dan serat elastik yang membentuk bekas luka (Shelma et al., 2008).

## KESIMPULAN

Variasi konsentrasi HPMC sebagai basis gel mempengaruhi viskositas, daya sebar gel, tanpa mempengaruhi organoleptis dan pH sediaan gel. Variasi

konsentrasi kitosan mempengaruhi viskositas, daya sebar, pH, organoleptis dan stabilitas, namun tidak mempengaruhi homogenitas gel. Konsentrasi gel kitosan 1,25% dan 2,5% memenuhi persyaratan gel yang baik. Pemberian gel kitosan dapat meningkatkan proses kontraksi luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar. Perawatan kontraksi luka gel kitosan 1,25% dan 2,5% mampu mempengaruhi presentase penyembuhan luka bakar IIA. Gel kitosan 2,5% memberikan hasil yang optimal dalam menyembuhkan luka bakar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arikumalasari, J., Dewantara, I. G. N. A., & Wijayanti, N. P. A. D. (2013). Optimasi HPMC Sebagai Gelling Agent Dalam Formula Gel Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(3).
- Garg, A., Aggarwal, D., Garg, S., & Singla, A. K. (2002). Spreading of semisolid formulations: An update. *Pharmaceutical Technology North America*, 26(9), 84–105.
- Gibson, M. (2009). Pharmaceutical Preformulation and Formulation. In J. Swarbrick (Ed.), *Martin's Physical Pharmacy and Pharmaceutical Sciences: Physical Chemical and Biopharmaceutical Principles in the Pharmaceutical Sciences: Sixth Edition* (2nd ed.). Informa Healthcare.
- Handayani, S. A., Purwanti, T., & Erawati, T. (2012). Pelepasan Na-Diklofenak Sistem Niosom Span 20-Kolesterol Dalam Basis Gel HPMC. *PharmaScientia*, 1(2), 21–28.
- Jin, Y., Ling, P.-X., He, Y.-L., & Zhang, T.-M. (2007). Effects of chitosan and heparin on early extension of burns.

- Burns, 33(8), 1027–1031.  
<https://doi.org/10.1016/j.burns.2006.12.002>
- Kumar, V. (2004). *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, International Edition 7th Edition* (7th ed.). Elsevier Saunders.
- Minami, S., Okamoto, Y., & Shigemasa, Y. (1999). Mechanism of Wound Healing Acceleration by Chitin and Chitosan. *Jpn. J. Vet. Anest. Surg.*, 30(2), 285–299.
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7), 603–632.  
<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>
- Rowe, R. (2013). Handbook of Pharmaceutical Excipients – 7th Edition. *Pharmaceutical Development and Technology*, 18(2), 544–544.  
<https://doi.org/10.3109/10837450.2012.751408>
- Shelma, R., Paul, W., & Sharma, C. (2008). Chitin nanofibre reinforced thin chitosan films for wound healing application. *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*, 22(2), 107–111.
- Syamsuni. (2006). *Farmasetika Dasar dan Hitungan Farmasi* (W. Syarief (ed.)). Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Takashi, M. (1988). Study on the mechanisms of wound healing acceleration by chitin and chitosan. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 46(2), 113–114.  
<http://hdl.handle.net/2115/2665>
- Thanasukarn, P., Pongsawatmanit, R., & McClements, D. (2004). Influence of emulsifier type on freeze-thaw stability of hydrogenated palm oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 18(6), 1033–1043.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.04.010>
- Thomas, S., Pius, A., & Gopi, S. (2020). *Handbook of Chitin and Chitosan 1st Edition*. Elsevier.  
<https://www.elsevier.com/books/handbook-of-chitin-and-chitosan/thomas/978-0-12-817966-6>
- Wardono, A. P., Pramono, B. H., Afrian, R., & Husein, J. (2012). Pengaruh Kitosan secara Topikal terhadap Penyembuhan Luka Bakar Kimiawi pada Kulit *Rattus norvegicus* The Influence of Topical Chitosan on Chemical Burn Healing in Skin *Rattus norvegicus*. 12(3), 177–187.
- Xu, R. (2004). *Burns Regenerative Medicine and Therapy* (X. Sun & B. S. Weeks (eds.)). S. Karger AG.  
<https://doi.org/10.1159/isbn.978-3-318-01037-4>