

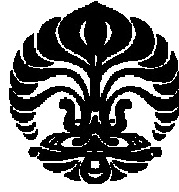
UNIVERSITAS INDONESIA

**PREPARASI DAN KARAKTERISASI FILM SAMBUNG SILANG
KITOSAN-TRIPOLIFOSFAT YANG MENGANDUNG
ASIATIKOSIDA SEBAGAI PEMBALUT BIOAKTIF
UNTUK LUKA**

TESIS

**YUNI ANGGRAENI
0906651100**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM MAGISTER ILMU KEFARMASIAN
DEPOK
JUNI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PREPARASI DAN KARAKTERISASI FILM SAMBUNG SILANG
KITOSAN-TRIPOLIFOSFAT YANG MENGANDUNG
ASIATIKOSIDA SEBAGAI PEMBALUT BIOAKTIF
UNTUK LUKA**

TESIS

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Farmasi**

**YUNI ANGGRAENI
0906651100**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM MAGISTER ILMU KEFARMASIAN
DEPOK
JUNI 2012**

ii

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

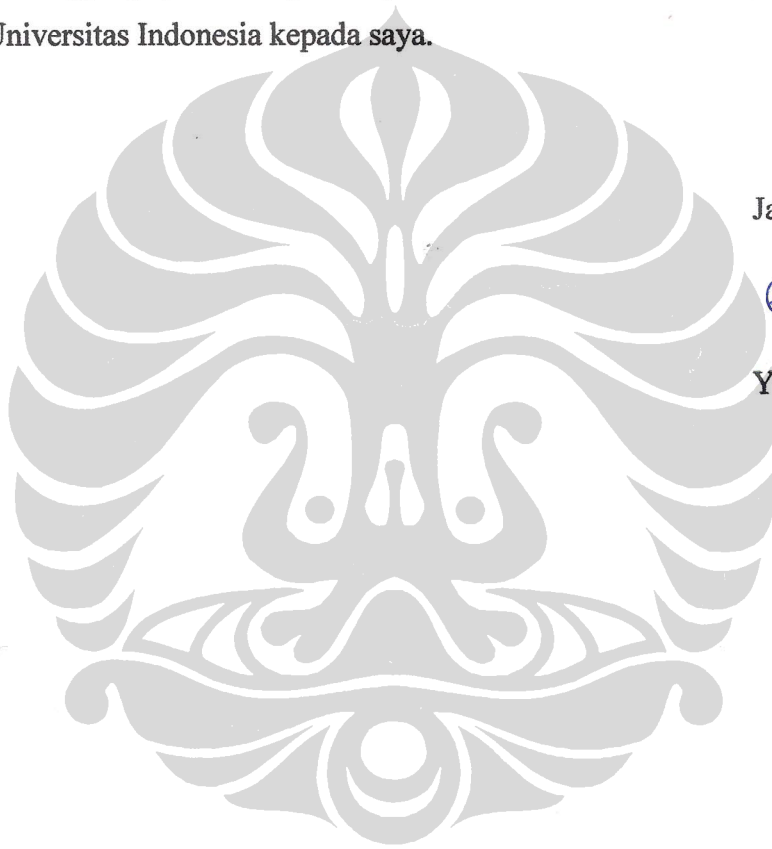
Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa tesis ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika dikemudian hari ternyata saya melakukan tindakan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Jakarta,



Yuni Anggraeni



HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Yuni Anggraeni

NPM : 0906651100

Tanda Tangan : 






Tanggal : 27 Juni 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :
Nama : Yuni Anggraeni
NPM : 0906651100
Program Studi : Magister Ilmu Kefarmasian
Judul Tesis : Preparasi dan Karakterisasi Film Sambung Silang
Kitosan-Tripolifosfat yang Mengandung
Asiatikosida sebagai Pembalut Bioaktif untuk
Luka

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Farmasi pada Program Studi Magister Ilmu Kefarmasian Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Prof. Dr. Effionora Anwar, M.S., Apt. ()
Pembimbing II : Dr. Abdul Mun'im, M.Si., Apt. ()
Penguji I : Dr. Silvia Surini, M.Pharm.Sc., Apt. ()
Penguji II : Dr. Mahdi Jufri, M.Si., Apt. ()
Penguji III : Dr. Arry Yanuar, M.Si., Apt. ()

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 27 Juni 2012

KATA PENGANTAR

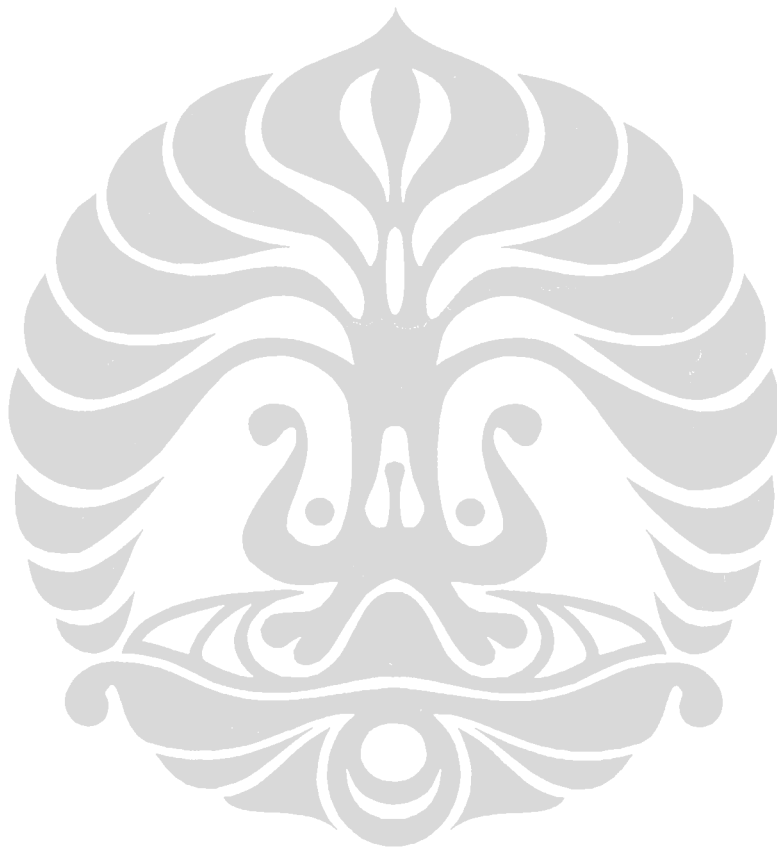
Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT, karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan tesis ini. Shalawat serta salam semoga senantiasa dilimpahkan kepada Nabi Muhammad SAW suri tauladan yang telah menyampaikan cahaya keimanan untuk seluruh umat manusia sampai akhir zaman. Penulisan tesis ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Farmasi pada Program Studi Pendidikan Magister Ilmu Kefarmasian Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan tesis ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

- (1) Prof. Dr. Effionora Anwar, M.S. dan Dr. Abdul Mun'im, M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan tesis ini;
- (2) Seluruh dosen Program Studi Pendidikan Magister Ilmu Kefarmasian FMIPA UI atas segala ilmu pengetahuan dan didikannya selama ini.
- (3) Keluarga tercinta atas segenap kasih sayang, perhatian, dukungan serta motivasi yang telah diberikan untuk menyelesaikan penelitian dan pendidikan S2 dengan sebaik mungkin.
- (4) Rekan-rekan S2 atas kebersamaan, dukungan dan bantuan yang telah diberikan.
- (5) Seluruh laboran dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI dan Departemen Farmasi FKIK UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Mba Devfa, Tiwi, Eris, Lisna, Yopi, Rahmadi, Liken, Mba Rani, serta staf TU yang telah banyak memberikan bantuan selama penelitian tesis ini.
- (6) Pak Endang, Muhardi, Dwi Nur Astria, dan Dina atas bantuannya selama ini.
- (7) Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama penelitian dan penulisan tesis ini.

Akhir kata, saya berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga tesis ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Penulis
2012



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yuni Anggraeni
NPM : 0906651100
Program Studi : Magister Ilmu Kefarmasian
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Preparasi dan Karakterisasi Film Sambung Silang Kitosan-Tripolifosfat yang Mengandung Asiatikosida sebagai Pembalut Bioaktif untuk Luka

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 27 Juni 2012

Yang menyatakan



(Yuni Anggraeni)

viii

ABSTRAK

Nama : Yuni Anggraeni
Program Studi : Magister Ilmu Kefarmasian
Judul : Preparasi dan Karakterisasi Film Sambung Silang Kitosan-Tripolifosfat yang Mengandung Asiatikosida sebagai Pembalut Bioaktif untuk Luka

Telah dibuat film sambung silang kitosan-tripolifosfat yang mengandung asiatikosida sebagai pembalut bioaktif untuk luka. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari parameter yang berpengaruh dalam pembuatan film sambung silang kitosan-tripolifosfat, mempelajari karakteristik film yang dihasilkan, mempelajari profil pelepasan asiatikosida dari film, serta mempelajari aktivitas penyembuhan lukanya secara *in vivo*. Film dibuat dalam empat formula F1, F2, F3, dan F4 dengan memvariasikan konsentrasi tripolifosfat antara lain 0%, 4%, 8%, dan 12% b/b kitosan. Sambung silang kitosan-tripolifosfat dibuat dengan metode gelasi ionik dan film dibuat dengan metode penguapan pelarut. Cairan pembentuk film (CPF) dan film yang dihasilkan dikarakterisasi yang meliputi spektroskopi FTIR, turbidimetri, viskositas, ketebalan, sifat mekanik, daya mengembang, laju transmisi uap air, kekuatan bioadhesif, profil pelepasan asiatikosida dari film, dan aktivitas penyembuhan luka secara *in vivo* pada luka mekanik terbuka derajat tiga. Hasilnya menunjukkan bahwa film F2, F3, dan F4 memiliki karakteristik yang lebih baik, terutama sifat mekaniknya daripada F1 dengan karakteristik terbaik ditunjukkan oleh F4. Persen kumulatif pelepasan asiatikosida pada jam ke enam dari film F1, F2, F3, dan F4 berturut-turut 84,8%, 72,1%, 73,4%, dan 72,0% dengan kinetika pelepasan dikontrol oleh proses difusi dan erosi. Film sambung silang kitosan-tripolifosfat (F4) belum menunjukkan aktivitas penyembuhan luka yang lebih baik dibandingkan kontrol dan aktivitas yang ditunjukkan tidak berbeda secara bermakna ($p > 0,05$) pada jenis luka yang diujikan (luka kering).

Kata kunci : asiatikosida, film, kitosan, pembalut bioaktif, sambung silang, tripolifosfat
xvi + 96 halaman : 21 gambar; 17 tabel; 37 lampiran
Daftar acuan : 49 (1984-2012)

ABSTRACT

Nama : Yuni Anggraeni
Program Study : Master of Pharmaceutical Science
Judul : Preparation and Characterization of Cross-Linked Chitosan-Tripolyphosphate Films Containing Asiaticoside as Bioactive Dressing for Wound Healing

Cross-linked chitosan-tripolyphosphate films containing asiaticoside have been prepared as bioactive dressing. The objectives of this research were to study the parameters that affect in preparation of cross-linked chitosan-tripolyphosphate films, to study the characteristics of the resulting films, to study the release profile of asiaticoside from the films, and to study *in vivo* wound healing activity. The Films were formulated in four formulas termed F1, F2, F3, and F4 by varying the concentration of tripolyphosphate including 0%, 4%, 8%, and 12% w/w of chitosan. Cross-linked chitosan-tripolyphosphate was prepared by ionic gelation technique and the films were prepared by casting/ solvent evaporation technique. Film-forming fluids (CPF) and the resulting films were characterized, including spectroscopy FTIR, turbidimetry, viscosity, film thickness, mechanical properties, swelling degree, water vapor transmission rate, bioadhesive property, release profile of asiaticoside from the film, and *in vivo* wound healing activity on third degree mechanical open wound. The result showed that F2, F3, and F4 films had better characteristics especially in mechanical properties than F1 film and the best characteristics was showed by F4 film. Cumulative release of asiaticoside at sixth hours from F1, F2, F3, and F4 films respectively were 84,8%, 72,1%, 73,4%, and 72,0% with the release kinetics were controlled by diffusion and erosion process. Cross-linked chitosan-tripolyphosphate film (F4) has not showed better wound healing activity than control and the activity wasn't significantly different on the type of wound that was tested (dry wound).

Keywords : asiaticoside, bioactive dressing, chitosan, cross-linked, film, tripolyphosphate
xvi + 96 pages : 21 figures; 17 tables; 37 appendices
Bibliography : 49 (1984-2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Luka	5
2.2. Pembalut Luka (<i>Wound Dressing</i>)	7
2.3. Pembentukan Film	9
2.4. Kitosan	10
2.4.1. Sifat Fisiko Kimia Kitosan	10
2.4.2. Aplikasi Kitosan	12
2.4.3. Film Kitosan	13
2.4.4. Sambung Silang Kitosan Secara Ionik	14
2.5. Natrium Tripolifosfat (STPP)	16
2.6. Asiatikosida	17
2.7. Sorbitol	18
2.8. Gliserin	19
3. METODOLOGI PENELITIAN	21
3.1. Lokasi Penelitian	21
3.2. Bahan	21
3.3. Alat	21
3.4. Cara Kerja	22
3.4.1. Penelitian Pendahuluan	22
3.4.1.1. Optimasi Pembuatan Sediaan Film	22
3.4.1.2. Optimasi Komposisi dan Konsentrasi <i>Plasticizer</i> ..	24
3.4.2. Preparasi Film	25
3.4.3. Karakterisasi Cairan Pembentuk Film	26
3.4.3.1. Konfirmasi Pembentukan Ikatan Silang	26
3.4.3.2. Uji Viskositas	27
3.4.4. Karakterisasi Film	27

3.4.4.1.	Pengukuran Ketebalan Film	27
3.4.4.2.	Uji Sifat Mekanik	27
3.4.4.3.	Uji Daya Mengembang	28
3.4.4.4.	Uji Laju Transmisi Uap Air	29
3.4.4.5.	Uji Kekuatan Bioadhesif Film Secara <i>In Vitro</i>	29
3.4.4.6.	Analisis Mikroskopik Film	30
3.4.5.	Uji Pelepasan Asiatikosida Secara <i>In Vitro</i>	30
3.4.6.	Penetapan Kadar Asiatikosida dalam Film	31
3.4.7.	Uji Aktivitas Penyembuhan Luka Film secara <i>In Vivo</i>	31
3.4.8.	Analisis Statistik	33
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1.	Uji Pendahuluan	34
4.1.1.	Kondisi Pembuatan Sediaan Film yang Optimum	34
4.1.2.	Komposisi dan Konsentrasi <i>Plasticizer</i> yang Optimum	37
4.2.	Preparasi Film	37
4.3.	Karakterisasi Cairan Pembentuk Film	38
4.3.1.	Konfirmasi Pembentukan Ikatan Silang	38
4.3.1.1.	Analisis Gugus Fungsi dengan Spektroskopi FTIR (<i>Fourier Transform Infrared</i>)	38
4.3.1.2.	Uji Turbidimetri	39
4.3.2.	Viskositas Cairan Pembentuk Film (CPF)	39
4.4.	Karakteristik Film	40
4.4.1.	Ketebalan Film	40
4.4.2.	Sifat Mekanik Film	40
4.4.3.	Daya Mengembang Film	43
4.4.4.	Laju Transmisi Uap Air Melalui Film	45
4.4.5.	Kekuatan Bioadhesif Film yang Diuji Secara <i>In Vitro</i>	46
4.4.6.	Analisis Mikroskopik Film	47
4.5.	Pelepasan Asiatikosida dalam Medium Uji Pelepasan	48
4.6.	Kadar Asiatikosida dalam Film	54
4.7.	Aktivitas Penyembuhan Luka Film Secara <i>In Vivo</i>	54
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	58
5.1.	Kesimpulan	58
5.2.	Saran	58
	DAFTAR ACUAN	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Fase Penyembuhan Luka pada Kulit	5
Gambar 2.2.	Penggabungan Partikel oleh Fusi karena Aliran Viskos	9
Gambar 2.3.	Air Kapiler Berperan sebagai Gaya Kontraksi	10
Gambar 2.4.	Struktur Molekul Kitosan	11
Gambar 2.5.	Sambung Silang Ionik Kitosan dengan Tripolifosfat	16
Gambar 2.6.	Struktur Molekul Natrium Tripolifosfat	16
Gambar 2.7.	Struktur Molekul Asiatikosida.....	17
Gambar 2.8.	Struktur Molekul Sorbitol	19
Gambar 2.9.	Struktur Molekul Gliserin	19
Gambar 3.1.	Bentuk Sampel Film untuk Uji Sifat Mekanik.....	28
Gambar 3.2.	Perlakuan Luka pada Tikus	32
Gambar 4.1.	Gambar Mikroskopik Film dengan Variasi Konsentrasi Larutan Tripolifosfat (TPP) (Perbesaran 100x)	35
Gambar 4.2.	Film Sambung Silang Kitosan yang Mengandung Asiatikosida (F2)	37
Gambar 4.3.	Spektrum FTIR Kitosan, Kitosan-Tripolifosfat, dan Natrium Tripolifosfat	38
Gambar 4.4.	Kurva Kekuatan Tarik Keempat Formula Film dalam Kondisi Kering dan Kondisi Lembab	42
Gambar 4.5.	Kurva Perpanjangan pada Saat Putus Keempat Formula Film dalam Kondisi Kering dan Kondisi Lembab	43
Gambar 4.6.	Profil Daya Mengembang Keempat Formula Film dalam Medium Dapar Fosfat Salin pH 7,4	44
Gambar 4.7.	Kurva Pertambahan Bobot Keempat Formula Film yang Disimpan dalam Wadah dengan Kelembaban $95 \pm 5\%$ dan temperatur $25 \pm 1^\circ\text{C}$	45
Gambar 4.8.	Gambar Mikroskopik Permukaan Keempat Formula Film (Perbesaran 400x)	47
Gambar 4.9.	Gambar Mikroskopik Sayatan Melintang Film Kitosan Sebelum (Kiri) dan Setelah (Kanan) Uji Pelepasan Asiatikosida (Perbesaran 400x)	48
Gambar 4.10.	Profil Pelepasan Asiatikosida dari Sediaan Keempat Formula Film dalam Medium Dapar Fosfat Salin pH 7,4 – Metanol (9:1)	50

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Fase Penyembuhan Luka	7
Tabel 3.1.	Variasi <i>Plasticizer</i> dalam Formula Film Kitosan	24
Tabel 3.2.	Rancangan Formula Film	26
Tabel 3.3.	Kelompok Perlakuan Luka pada Tikus	32
Tabel 4.1.	Sifat Cairan Pembentuk Film (CPF) dan Film yang Dihasilkan dari Reaksi Ikatan Silang Kitosan-Tripolifosfat dengan Variasi Konsentrasi Larutan Tripolifosfat	34
Tabel 4.2.	Persentase Kekeruhan Cairan Pembentuk Film (CPF) dari Keempat Formula	39
Tabel 4.3.	Viskositas Cairan Pembentuk (CPF) dari Keempat Formula	40
Tabel 4.4.	Ketebalan Keempat Formula Film	40
Tabel 4.5.	Kekuatan Tarik dan Perpanjangan pada Saat Putus Keempat Formula Film dalam Kondisi Kering dan Kondisi Lembab ..	41
Tabel 4.6.	Kadar Air Keempat Formula Film dalam Kondisi Kering dan Kondisi Lembab	41
Tabel 4.7.	Daya Mengembang Keempat Formula Film dalam Medium Dapar Fosfat Salin pH 7,4	43
Tabel 4.8.	Laju Transmisi Uap Air Melalui Keempat Formula Film	45
Tabel 4.9.	Kekuatan Bioadhesif Keempat Formula Film	46
Tabel 4.10.	Persen Kumulatif Pelepasan Asiatikosida dari Keempat Formula Film dalam Medium Dapar Fosfat Salin pH 7,4 – Metanol (9:1)..	49
Tabel 4.11.	Analisis Kinetika Pelepasan Asiatikosida dari Keempat Formula Film	52
Tabel 4.12.	Kadar Aktual Asiatikosida dalam Keempat Formula Film	54
Tabel 4.13.	Persentase Penurunan Luas Area Luka	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Bagan Alur Penelitian	67
Lampiran 2.	Alat Pemotong Sampel Uji Tarik <i>Dumb Bell</i> Saitama Jepang dengan standar ASTM-D 1822-1	68
Lampiran 3.	Alat Uji Tarik <i>Tensile Tester</i> Stograph R-1 Toyoseiki-Jepang	68
Lampiran 4.	Alat <i>Texture Analyzer</i> TA-XT ₂ i	69
Lampiran 5.	Mikrometer Digital Mitutoyo	69
Lampiran 6.	Perubahan pH Permukaan Film pada Saat Perendaman	69
Lampiran 7.	Kromatogram (a) Larutan Asiatikosida Standar 100 ppm dan (b) Larutan Asiatikosida Sampel 100 ppm dalam Medium Uji Pelepasan	70
Lampiran 8.	Kurva Kalibrasi Asiatikosida dalam Medium Uji Pelepasan .	71
Lampiran 9.	Gambar Keempat Formula Film Setelah Uji Pelepasan	72
Lampiran 10.	Gambar Mikroskopik Permukaan Film: (a) Sebelum dan (b) Sesudah Uji Pelepasan	72
Lampiran 11.	Kurva Kinetika Pelepasan Asiatikosida Model Higuchi dari Keempat Formula Film	73
Lampiran 12.	Kurva Kinetika Pelepasan Asiatikosida Model Korsmeyer-Peppas dari Keempat Formula Film	74
Lampiran 13.	Foto Luka pada Tikus Hari ke-0, 3, dan 7	75
Lampiran 14.	Ketebalan Keempat Formula Film	76
Lampiran 15.	Kekuatan Tarik dan Perpanjangan pada Saat Putus Keempat Formula Film dalam Kondisi Kering	77
Lampiran 16.	Kekuatan Tarik dan Perpanjangan pada Saat Putus Film Kitosan Keempat Formula dalam Kondisi Lembab	78
Lampiran 17.	Kadar Air Keempat Formula Film dalam Kondisi Kering dan Kondisi Lembab	79
Lampiran 18.	Daya Mengembang Keempat Formula Film dalam Medium Dapar Fosfat Salin pH 7,4	80
Lampiran 19.	pH Medium Uji Daya Mengembang Film	82
Lampiran 20.	Laju Transmisi Uap Air Melalui Keempat Formula Film	82
Lampiran 21.	Kekuatan Bioadhesif Keempat Formula Film	83
Lampiran 22.	Data Kurva Kalibrasi Asiatikosida dalam Medium Uji Pelepasan	83
Lampiran 23.	Persentase Kekeruhan Medium Uji Pelepasan Setelah Uji Pelepasan Asiatikosida dari Keempat Formula Film	83
Lampiran 24.	Persen Kumulatif Pelepasan Asiatikosida dari Keempat Formula Film dalam Medium Dapar Fosfat Salin pH 7,4 – Metanol (9:1)	84
Lampiran 25.	Analisis Kinetika Pelepasan Asiatikosida Model Higuchi dan Korsmeyer-Peppas dari Keempat Formula Film	85
Lampiran 26.	Kadar Asiatikosida dalam Keempat Formula Film	85
Lampiran 27.	Persentase Penurunan Luas Area Luka pada Tikus	86
Lampiran 28.	Analisis Statistik Kekuatan Bioadhesif	86

Lampiran 29.	Analisis Statistik Persentase Penurunan Luas Area Luka Hari ke-3	88
Lampiran 30.	Analisis Statistik Persentase Penurunan Luas Area Luka Hari ke-7	89
Lampiran 31.	Perhitungan Jumlah Kumulatif Pelepasan Asiatikosida dari Film	91
Lampiran 32.	Perhitungan Parameter Kinetika Pelepasan dari Persamaan Higuchi dan Korsmeyer-Peppas	92
Lampiran 33.	Perhitungan Kadar Asiatikosida dalam Film	93
Lampiran 34.	Perhitungan Persentase Penurunan Luas Area Luka Tikus ...	93
Lampiran 35.	Sertifikat Analisis Kitosan	94
Lampiran 36.	Sertifikat Analisis Standar Asiatikosida	95
Lampiran 37.	Sertifikat Analisis Asiatikosida	96



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyembuhan luka didefinisikan sebagai restorasi jaringan dan proses reparatif yang biasanya terdiri dari rangkaian kontinyu inflamasi dan perbaikan. Selama proses ini, sel epitel, sel endotel, sel inflamatori, platelet, dan fibroblas berinteraksi untuk mengembalikan fungsi normalnya. Penelitian akhir-akhir ini dilakukan untuk menemukan cara supaya luka dapat sembuh melalui regenerasi dan penggunaan berbagai macam bahan pembalut (*dressing*) untuk memfasilitasi manajemen luka yang baik (Lim & Halim, 2010).

Sebelum tahun 1960-an, pembalut luka yang digunakan bersifat pasif yang hanya memberikan efek yang minimal terhadap proses penyembuhan luka. Kemudian pembalut luka mengalami perkembangan lebih lanjut di mana pembalut yang interaktif seperti film polimer mulai digunakan. Film polimer ini bersifat transparan, permeabel terhadap uap air dan oksigen tetapi impermeabel terhadap bakteri (Lim & Halim, 2010) seperti poli uretan. Perkembangan pembalut luka tidak berhenti sampai di sini. Para peneliti terus mengupayakan supaya pembalut dapat secara aktif terlibat dalam proses penyembuhan luka sehingga dibuatlah pembalut bioaktif di mana pembalut berperan dalam menghantarkan senyawa bioaktif atau pembalut dibuat dari bahan yang memiliki aktivitas endogen, seperti proteoglikan, kolagen, protein nonkolagen, alginat, atau kitosan (Lim & Halim, 2010).

Penggunaan kitosan dalam manajemen luka memiliki banyak keuntungan karena sifat biokompatibilitas dan biodegradabilitas molekulnya yang tidak membahayakan lingkungan. Ketika kitosan digunakan sebagai pembalut luka, di samping biokompatibel, kitosan juga akan dibiodegradasi oleh lisozim, kitinase, dan kitosanase menjadi oligomer dan monomer (gula amin) yang tidak berbahaya dan secara sempurna diabsorpsi oleh tubuh (Lim & Halim, 2010). Karena sifatnya ini, pembalut dari bahan kitosan tidak perlu dilepaskan dari daerah luka pada proses

penggantian pembalut. Hal ini akan membantu mengurangi rasa sakit yang ditimbulkan pada proses penggantian pembalut.

Kitosan juga dilaporkan memiliki sifat analgetik, bakteriostatik, dan fungistatik, yang terutama berguna dalam penanganan luka. Luka terbuka sering menimbulkan nyeri yang parah pada pasien. Kitosan yang diaplikasikan ke daerah luka akan menginduksi analgesia dengan memberikan efek dingin, nyaman, dan sejuk. Selain itu, Majeti *and* Ravi (2000) melaporkan bahwa kitosan mengatur fungsi makrofag dan sekresi sejumlah enzim (seperti kolagenase) dan sitokin (seperti interleukin dan *tumor necrosis factor*) selama proses penyembuhan luka dan Minagawa *et al.* (2007) melaporkan degradasi kitosan pada daerah luka, secara signifikan mempercepat proses penyembuhan luka (Lim & Halim, 2010).

Sebagai pembalut luka, kitosan dapat dibuat dalam beberapa bentuk yang salah satunya adalah film. Film kitosan memiliki kekuatan mekanik, bioadhesivitas, dan toksisitas yang baik, terutama apabila dibuat dengan menggunakan pelarut asam laktat encer dibandingkan asam asetat (Khan, Peh, & Ch'ng, 2000). Selain itu, film kitosan juga memiliki permeabilitas udara dan uap air yang cukup baik dan cukup absorptif sehingga dapat menjaga suplai oksigen dan kelembaban di daerah luka (Sezer *et al.*, 2007; Khan, Peh, & Ch'ng, 2000).

Selain digunakan secara tunggal sebagai pembalut luka, saat ini para peneliti mempelajari kombinasi kitosan dengan bahan lain untuk meningkatkan aktivitasnya dalam penyembuhan luka baik berupa polimer maupun berupa senyawa obat yang diharapkan lepas pada saat pengaplikasian film kitosan ke daerah luka. Apalagi kitosan sudah banyak dipelajari oleh para peneliti sebagai sistem penghantaran obat.

Pelepasan obat dari kitosan dipengaruhi oleh daya mengembang kitosan yang dapat diatur dengan membentuk ikatan silang polimer kitosan. Kitosan dapat mengalami ikatan silang baik secara kovalen maupun ionik. Penyambung silang kovalen biasanya bersifat agak toksik sedangkan penyambung silang ionik biasanya lebih aman digunakan. Kitosan mengalami protonasi dalam suasana asam sehingga membentuk polikation yang dapat membentuk ikatan silang dengan molekul anionik seperti tripolifosfat (Berger *et al.*, 2004). Sambung silang kitosan dengan tripolifosfat sudah banyak digunakan dalam sistem penghantaran obat seperti

penghantaran lidokain yang dilaporkan oleh Varshosaz dan Karimzadeh (2007). Adanya sambung silang dalam polimer kitosan dapat mengontrol pelepasan obat yang dibawanya. Semakin tinggi kerapatan ikatan silang yang terbentuk, pelepasan obat semakin diperpanjang (Varshosaz & Karimzadeh, 2007).

Noel, Courtney, Bumgardner, and Haggard (2008) telah menggunakan kitosan untuk menghantarkan antibiotik ke daerah luka. Kitosan yang disambung silang dengan tripolifosfat juga sudah digunakan sebagai sistem penghantaran papain dan *Aloe Vera* ke daerah luka berupa mikropartikel yang menunjukkan percepatan dalam proses penyembuhan luka bakar derajat tiga (Adlia, Suciati, Iwo, Darijanto, 2011).

Para peneliti sudah banyak mempelajari penggunaan obat luka yang berasal dari bahan alam. Selain papain dan *Aloe vera*, *Centella asiatica* (L.) Urban juga sudah lama diteliti sebagai obat luka. *Centella asiatica* atau dikenal dengan sebutan pegagan banyak tumbuh, baik secara liar maupun dibudidayakan di Indonesia. Rosen *et al.* (1967) telah melaporkan aktivitas penyembuhan luka dari tanaman ini. Senyawa dalam tanaman ini yang aktif secara farmakologi dalam penyembuhan luka adalah asiatikosida. Asiatikosida telah diteliti, baik secara topikal maupun oral dapat meningkatkan laju penyembuhan luka secara signifikan melalui peningkatan sintesis kolagen dan kekuatan tarik jaringan luka, mempercepat epitelisasi, dan meningkatkan angiogenesis. Asiatikosida cukup efektif digunakan sebagai obat untuk mempercepat proses penyembuhan luka (Shukla *et al.*, 1999). Aktivitas asiatikosida yang cukup baik dalam penyembuhan luka membuat para peneliti berupaya menemukan sistem penghantaran yang tepat untuk senyawa ini. Beberapa bentuk sediaan sudah dipelajari seperti sediaan serat nano dan film selulosa asetat (Suwantong, Ruktanonchai & Supaphol, 2008), hidrogel alginat (Sikareepaisan, Ruktanonchai & Supaphol, 2011), serta serat nano gelatin (Sikareepaisan, Suksamrarn & Supaphol, 2008).

Pada penelitian tesis ini akan dibuat pembalut bioaktif yang mengandung asiatikosida dari bahan kitosan yang disambung silang dengan tripolifosfat dalam upaya untuk memperbaiki sifat mekanik film dan dalam upaya mengatur pelepasan asiatikosida yang terkandung dalam film. Film dibuat dengan metode penguapan pelarut menggunakan oven bertemperatur 60 °C. Cairan pembentuk film (CPF) dan

Universitas Indonesia

film yang dihasilkan akan dikarakterisasi yang meliputi pembentukan ikatan silang dengan FTIR (*Fourier Transform Infrared*) dan turbidimetri, viskositas, ketebalan film, daya mengembang film, sifat mekanik film, laju transmisi uap air melalui film, kekuatan bioadhesif film, profil pelepasan asiatikosida dari film, serta aktivitas penyembuhan luka film secara *in vivo* pada luka mekanik terbuka derajat tiga.

Diharapkan, penelitian ini dapat meningkatkan pemanfaatan sumber daya alam Indonesia seperti asiatikosida yang berasal dari herba *Centella asiatica* (Shukla *et al.*, 1999) ataupun kitosan yang berasal dari *crustaceae* seperti udang, kepiting, dan cumi-cumi (Illum, 1998) serta mengolahnya menjadi suatu sediaan farmasi yang bermanfaat dan lebih bernilai untuk membantu proses penyembuhan luka.

1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini antar lain:

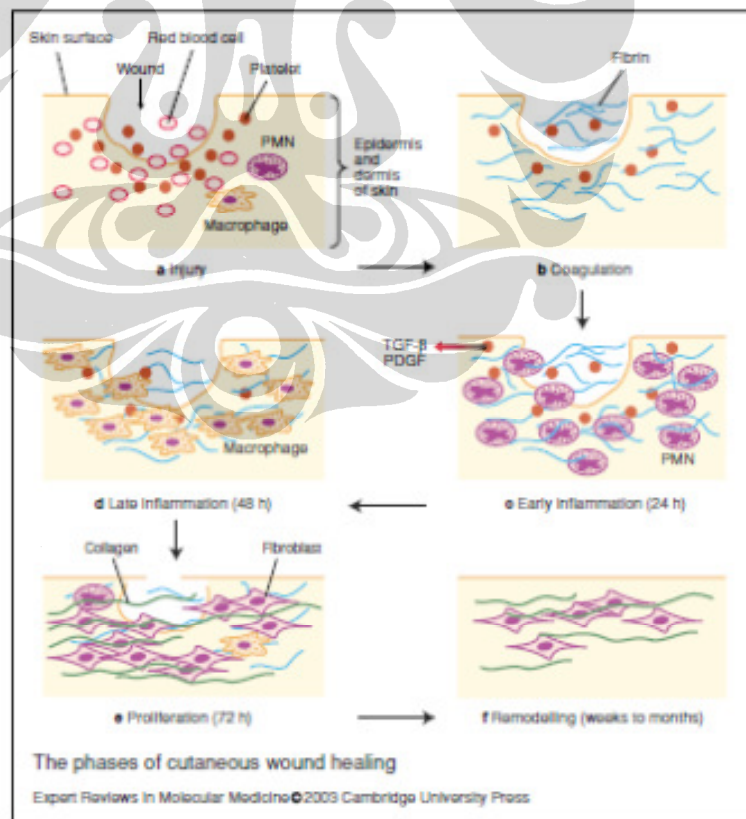
1. Mempelajari parameter yang berpengaruh dalam pembuatan pembalut bioaktif film sambung silang kitosan-tripolifosfat yang mengandung asiatikosida dengan derajat ikatan silang film yang homogen.
2. Mempelajari karakteristik film sambung silang kitosan-tripolifosfat yang mengandung asiatikosida
3. Mempelajari profil pelepasan asiatikosida dari film sambung silang kitosan-tripolifosfat
4. Mempelajari aktivitas penyembuhan luka film sambung silang kitosan-tripolifosfat yang mengandung asiatikosida secara *in vivo* pada luka mekanik terbuka derajat tiga

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Luka

Luka didefinisikan sebagai gangguan struktur anatomi dan fungsi bagian tubuh. Hal ini dapat disebabkan oleh potongan sederhana, terbakar, dan cedera lainnya. Secara umum, luka diklasifikasikan menjadi luka tanpa kehilangan jaringan (seperti sayatan bedah) atau luka dengan kehilangan jaringan seperti luka bakar, luka karena trauma, abrasi atau peristiwa sekunder untuk penyakit kronik (seperti ulkus diabetes). Sebaliknya, penyembuhan luka merupakan proses restorasi di mana terjadi perbaikan jaringan dan biasanya terdiri dari rangkaian kontinyu inflamasi dan perbaikan jaringan selama sel epitel, sel endotel, sel inflamatori, platelet, dan fibroblast berinteraksi secara singkat untuk mengembalikan fungsi normal (Lim & Halim, 2010).



[Sumber: Beanes, Dang, Chia Soo, & Kang Ting, 2003]

Gambar 2.1. Fase penyembuhan luka pada kulit

Beragam proses selular yang saling tumpang tindih dan terus menerus memberikan kontribusi terhadap penyembuhan luka yang meliputi regenerasi sel, proliferasi sel, dan pembentukan kolagen. Respon jaringan terhadap cedera melewati beberapa fase yaitu inflamatori, proliferasi, dan maturasi (Smeltzer & Bare, 2001).

(a) Segera setelah cedera kulit, elemen darah dan amin vasoaktif ekstrasvasasi dari pembuluh darah lokal yang rusak ke dalam dermis. Permeabilitas vaskular sementara meningkat supaya neutrofil [*polymorphonuclear neutrophils* (PMNs)], platelet dan protein plasma menginfiltrasi luka. Selanjutnya terjadi vasokonstriksi sebagai respon terhadap faktor yang dilepaskan oleh sel-sel tersebut; (b) Koagulasi kemudian terjadi karena agregasi platelet dengan fibrin yang terdeposit dalam luka setelah dikonversi dari fibrinogen. (c) Platelet melepaskan beberapa faktor yang meliputi *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor β* (TGF- β) yang menarik PMNs ke luka, memberi sinyal lainnya inflamasi. (d) Setelah 48 jam, makrofag menggantikan PMNs sebagai sel inflamatori yang utama. Bersama-sama, PMNs dan makrofag menghilangkan debris dari luka, melepaskan faktor pertumbuhan, dan mulai menyusun kembali matriks ekstraselular. (e) Fase proliferasi dimulai setelah 72 jam karena fibroblas, yang ditarik ke luka oleh faktor pertumbuhan yang dilepaskan oleh sel inflamatori, mulai mensintesis kolagen. (f) Meskipun laju sintesis kolagen melambat setelah sekitar 3 minggu, sambung silang kolagen dan reorganisasi terjadi selama berbulan-bulan setelah cedera pada fase *remodelling* perbaikan (Beanes, Dang, Chia Soo, & Kang Ting, 2003).

Tabel 2.1. Fase penyembuhan luka

Fase	Waktu	Peristiwa
Inflamatori (juga disebut fase <i>lag</i> atau eksudatif)	1-4 hari	Terbentuk bekuan darah, luka menjadi edema, serta debris dari jaringan yang rusak dan bekuan darah difagositosis
Proliferatif (juga disebut fase fibroblastik atau jaringan ikat)	5-20 hari	Terbentuk kolagen, terbentuk jaringan granulasi, dan kekuatan tegangan luka meningkat
Maturasi (juga disebut fase diferensiasi, resorptif, remodeling, atau <i>plateu</i>)	21 hari sampai sebulan atau bahkan tahunan	Fibroblas meninggalkan luka, kekuatan tegangan luka meningkat, dan serat-serat kolagen disusun kembali dan dikuatkan untuk mengurangi ukuran jaringan parut

[Sumber: Smeltzer & Bare, 2001]

2.2. Pembalut Luka (*Wound Dressing*)

Pembalut luka sudah sejak lama digunakan dalam manajemen luka untuk mempercepat proses penyembuhan luka. Prinsip balutan adalah bagaimana menciptakan suasana luka dalam keadaan lembab sehingga dapat meminimalisasi trauma dan risiko operasi (Cahyono, 2007). Pembalut luka yang paling ideal adalah kulit alami sehingga dalam pengembangannya penutup luka dibuat agar memiliki karakteristik yang mirip dengan kulit. Dengan demikian pembalut luka dapat tinggal lebih lama di daerah luka tanpa memberikan gangguan dan mampu mempercepat proses penyembuhan luka. Supaya memiliki karakteristik tersebut, maka suatu pembalut perlu memenuhi beberapa syarat berikut ini (Lloyd *et al.*, 1998):

1. Mampu memelihara kelembaban yang tinggi pada antarmuka luka dan pembalut sekaligus mampu membuang eksudat luka berlebih dan senyawa-senyawa toksik melalui absorpsi;

2. Memungkinkan pertukaran udara sekaligus memelihara lapisan yang tidak permeabel terhadap mikroorganisme sehingga dapat mencegah infeksi sekunder;
3. Dapat mengisolasi termal;
4. Bersifat biokompatibel dan tidak merangsang reaksi alergi selama kontak dengan jaringan;
5. Memiliki daya lekat yang minimal terhadap permukaan luka sehingga saat dilepaskan dari luka tidak memberikan rasa sakit;
6. Secara fisik kuat bahkan pada saat basah; dan
7. Dapat dibuat dalam bentuk steril;

Jika kriteria ini dapat dipenuhi maka lingkungan penyembuhan luka yang optimum dapat dipelihara dan proses penyembuhan dapat dipercepat (Lloyd *et al.*, 1998).

Salah satu bentuk dari pembalut luka yang banyak dikembangkan adalah pembalut bioaktif yaitu suatu pembalut yang diketahui mengandung senyawa yang dapat menstimulasi proses penyembuhan atau salah satu komponen lapisan hidrofilik polimernya memiliki efek menguntungkan yang diketahui. Beberapa contoh senyawa yang dapat digabungkan ke dalam pembalut untuk mempercepat proses penyembuhan antara lain steroid, antibiotik, dan faktor pertumbuhan. Penggunaan pembalut akan menciptakan antarmuka antara permukaan luka dan pembalut yang dapat diisi oleh senyawa-senyawa tersebut sehingga dapat menstimulasi proses penyembuhan luka (Lloyd *et al.*, 1998).

Salah satu pembalut bioaktif yang terbukti mampu menstimulasi dan mempercepat proses penyembuhan luka adalah kitosan. The Su Moe, Tin Aye Khaing, Tha Zin Han, & Hla Myat Mon (2008) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa larutan kitosan dalam asam asetat 1% dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Selain itu, luka yang ditutup dengan film kitosan yang dikombinasi dengan gelatin menunjukkan proses penyembuhan yang lebih cepat.

2.3. Pembentukan Film

Pembentuk film merupakan polimer yang mampu mengeras menjadi film yang koheren. Polimer membutuhkan struktur kimia dalam molekulnya yang memberikan kelarutan dalam medium tertentu. Sifat fisik polimer ini penting untuk membentuk film (Osterwald, 1984).

Pembentukan film biasanya melibatkan proses pemanasan. Selama pemanasan, pelarut menguap baik dari larutan maupun dispersi. Pada awalnya polimer berada dalam bentuk kumparan yang terisolasi. Jika pelarut menguap secara lambat, kumparan akan saling mendekat, hingga pada konsentrasi polimer tertentu, kumparan polimer akan saling berpenetrasi satu sama lain (Osterwald, 1984).

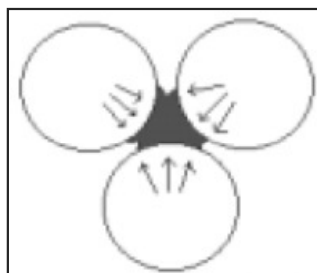
Pembentukan film dari sistem dispersi polimer dapat digambarkan oleh pembentukan film lateks yang merupakan koloid partikel polimer yang terdispersi dalam cairan. Ikatan dua atau lebih partikel polimer kering terjadi karena aliran polimer yang viskos, tegangan permukaan plastis menyediakan tekanan geser yang dibutuhkan (Krogars, 2003).



[Sumber: Krogars, 2003]

Gambar 2.2. Penggabungan partikel oleh fusi karena aliran viskos

Namun, untuk partikel yang tidak kering, pembentukan film akan terjadi jika gaya kapiler lebih besar dari resistensi deformasi partikel polimer (Gbr. 2.3.). Pembentukan film akan dipengaruhi oleh tegangan permukaan, ukuran partikel dispersi, waktu pengeringan, temperatur, dan sifat reologi polimer (Krogars, 2003).



[Sumber: Krogars, 2003]

Gambar 2.3. Air kapiler berperan sebagai gaya kontraksi

Pembentukan film terjadi dalam tiga tahap yang berbeda. Penguapan air terjadi pada tahap pertama, dan sebagai konsekuensinya konsentrasi meningkat. Pada tahap ke dua air terus menguap dan, sebagai konsekuensi dari gaya kapiler, partikel polimer saling mendekat dan terjadi perubahan bentuk partikel. Pada tahap ke tiga terjadi autohesion di mana molekul rantai polimer saling berdifusi, membentuk ikatan kuat yang stabil (Krogars, 2003).

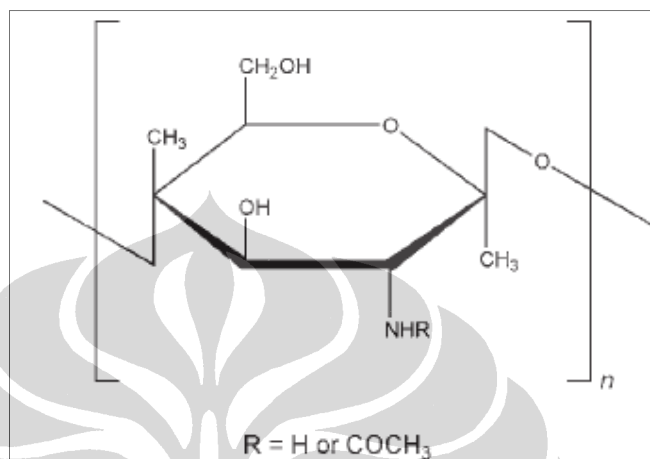
2.4. Kitosan

2.4.1. Sifat Fisiko Kimia Kitosan

Kitosan, dengan nama kimia poli- β -(1,4)-2-amino-2-deoksi-D-glukosa, merupakan hasil dari deasetilasi parsial kitin dan merupakan polisakarida yang terdiri dari kopolimer glukosamin dan N-asetilglukosamin. Kitosan terdapat dalam berbagai derajat deasetilasi dan depolimerisasi sehingga tidak mudah untuk menentukan komposisi kimianya. Derajat deasetilasi yang dibutuhkan untuk memperoleh produk yang larut harus lebih besar dari 80-85%. Berat molekulnya berkisar antara 10.000-1.000.000 (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).

Kitosan tidak berbau, berupa serbuk atau serpihan berwarna putih atau krem. Pembentukan serat sering terjadi selama pengendapan dan dapat terlihat '*cottonlike*'. Kitosan merupakan poli-amin kationik dengan kerapatan muatan yang tinggi pada pH < 6,5, sehingga menempel pada permukaan yang bermuatan negatif dan mengkelat ion logam. Selain itu, ia juga merupakan polielektrolit linier dengan gugus amin dan hidroksil yang reaktif (tersedia untuk reaksi kimia dan pembentukan garam). Adanya sejumlah gugus amin membuat kitosan

bereaksi secara kimia dengan sistem anionik, yang menghasilkan perubahan sifat fisiko kimia kombinasi ini. Hampir semua sifat fungsional kitosan bergantung pada panjang rantai, kerapatan muatan, dan distribusi muatan (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).



[Sumber: Rowe, Sheskey dan Quinn, 2009]

Gambar 2.4. Struktur molekul kitosan

pH 1% larutan kitosan dalam air berkisar 4,0-6,0. Berat jenis kitosan 1,35-1,4 g/cm³ dan temperatur gelas transisinya 203 °C. Kitosan agak sukar larut dalam air; praktis tidak larut dalam etanol (95%), pelarut organik lain, dan larutan netral atau basa pada pH di atas 6,5. Kitosan larut dengan mudah pada hampir semua asam organik encer maupun pekat dan sampai jumlah tertentu dalam asam mineral anorganik (kecuali asam fosfor dan asam sulfur). Selama disolusi, gugus amin polimer terprotonasi, menghasilkan polisakarida bermuatan positif dan garam kitosan yang larut dalam air; kelarutan dipengaruhi oleh derajat deasetilasi. Kelarutan juga sangat dipengaruhi oleh penambahan garam ke dalam larutan. Kekuatan ionik lebih besar, kelarutan lebih kecil sebagai akibat dari pengaruh *salting-out*, yang menyebabkan pengendapan kitosan. Ketika kitosan dalam larutan, gaya tolak antara unit deasetilasi dan unit glukosamin tetangganya menyebabkan kitosan berada dalam konformasi memanjang. Penambahan elektrolit menurunkan efek ini dan molekul memiliki konformasi yang lebih acak seperti kumparan (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).

Kitosan merupakan bahan yang tidak toksik dan tidak iritan. Kitosan biokompatibel dengan kulit baik sehat maupun terinfeksi serta bersifat biodegradabel (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).

2.4.2. Aplikasi Kitosan

Kitosan telah banyak diteliti sebagai pembawa dalam sistem penghantaran obat dalam berbagai bentuk sediaan, seperti gel, film, *beads*, mikrosfer, tablet, dan penyalut untuk liposom (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009). Penelitian kitosan pada berbagai hewan uji menunjukkan kemampuannya untuk meningkatkan hemostasis, menurunkan fibroplasia, memfasilitasi osteogenesis, dan meningkatkan regenerasi jaringan. Kitosan juga menunjukkan aktivitas antimikroba dan dapat mempercepat penyembuhan luka (The Su Moe, Tin Aye Khaing, Tha Zin Han, & Hla Myat Mon, 2008).

Kitosan merupakan serat biopolimer yang menarik dan kompatibel sehingga sangat direkomendasikan untuk digunakan dalam pengembangan biomatriks untuk aplikasi klinis, seperti untuk alat penghantaran obat, pembalut bioaktif dan perancah untuk rekayasa jaringan. Kitosan juga bersifat tidak toksik, nonimunogenik, dan biodegradabilitasnya bagus (Pati *et al.*, 2010).

Kitosan merupakan kandidat yang menjanjikan untuk mengobati luka bakar. Kitosan dapat membentuk film yang kuat, mengabsorpsi air, dan biokompatibel. Selain itu, permeabilitas kitosan terhadap oksigen sangat baik. Sifat ini sangat penting untuk mencegah kekurangan oksigen pada jaringan yang cedera. Sifat kitosan yang mampu menyerap air dan dapat terdegradasi secara alami oleh enzim dalam tubuh terutama lisozim (Berger, 2004), menyebabkan film kitosan yang sudah ditempel pada luka tidak perlu dilepaskan sehingga tidak menyebabkan gangguan pada daerah yang cedera tersebut (P.K. Dutta, J. Dutta, & Tripathi, 2004). Produk degradasi dari kitosan dapat diabsorpsi dan bahkan memiliki nilai nutrisi (Lloyd *et al.*, 1998).

Polisakarida kitosan yang memiliki struktur yang mirip dengan glikosaminoglikan dapat dipertimbangkan untuk mengobati luka kronik dengan penggantian kulit (*skin replacement*) (Dutta, P.K., Dutta, J., & Tripathi, 2004).

2.4.3. Film Kitosan

Sifat film kitosan bergantung pada morfologinya yang dipengaruhi oleh sistem pelarut, berat molekul, derajat N-asetilasi, penguapan pelarut, dan mekanisme regenerasi amin bebas. Polimorfisme kitosan diatur oleh kondisi preparasi dan memainkan peranan penting dalam sifat *tensile* yang dihasilkan. Brine and Austin menunjukkan bahwa orientasi film dan kekuatan tarik (*tensile strength*) meningkat dengan penarikan (*drawing*). Namun bagaimanapun, untuk memperoleh film dengan kekuatan yang cukup, film dicetak dengan menggunakan sistem pelarut anhidrat (TCA/metilen klorida dengan kloral hidrat), menggunakan polimer dengan berat molekul yang tinggi, waktu disolusi yang cepat (<1 jam), merendam film dalam koagulan anhidrat (aseton), menetralkan film dengan alkali anhidrat (1-5% KOH dalam 2-propanol), menariknya, kemudian mengekstraksi pelarut dengan air suling. Film yang dihasilkan memiliki kekuatan tarik 75-95 kg/mm² (75-95 MPa) dengan elongasi 4% sedangkan film yang tidak ditarik hanya memiliki kekuatan tarik 32,5 kg/mm² (32,5 MPa) dengan elongasi 4%. Hal ini menunjukkan signifikansi penarikan terhadap kekuatan tarik yang dihasilkan (Rathke & Hudson, 1994).

Averbach melaporkan bahwa film kitosan dari 10% larutan asam asetat yang dikeringkan pada 125 °C menunjukkan kisi-kisi dalam film meningkat dengan meningkatnya derajat N-asetilasi. Hal ini menurunkan ikatan antarrantai (Rathke & Hudson, 1994).

Penelitian Samuel menunjukkan bahwa medium koagulasi seperti halnya asam untuk mencetak film dapat mempengaruhi struktur kristal kitosan. Transformasi kristal dalam penarikan juga signifikan. Selain itu, penelitian ini juga menunjukkan secara signifikan bahwa derajat N-asetilasi tidak mempengaruhi bentuk kristal (Rathke & Hudson, 1994).

Sajurai *et al.* mengembangkan penelitian Samuel. Hasilnya menunjukkan bahwa derajat kristalinitas film kitosan menurun dengan meningkatnya ukuran asam yang digunakan untuk melarutkan kitosan. Elongasi yang tinggi diperkirakan karena efek plastisasi dari asam. Dengan demikian, pemilihan asam dapat memberikan efek yang signifikan terhadap kekuatan tarik, yang biasanya meningkat dengan meningkatnya kristalinitas (Rathke & Hudson, 1994).

Sifat mekanik film kitosan, dalam hal ini kekuatan tarik, dapat ditingkatkan dengan menambahkan penyambung silang untuk membentuk ikatan silang antarpolimer kitosan. Kekuatan tarik film kitosan sambung silang meningkat baik dalam keadaan kering maupun basah tanpa mengurangi sifat elongasi secara signifikan (Rathke & Hudson, 1994).

Film kitosan yang digunakan untuk pembalut luka sebaiknya kuat tetapi fleksibel. Tidak hanya itu, film yang dihasilkan harus aman, tidak menyebabkan iritasi ataupun toksik. Khan, Peh & Ch'ng (2000) mencoba membandingkan film yang dibuat dengan menggunakan pelarut asam asetat dan asam laktat. Hasilnya menunjukkan film yang dibuat dengan pelarut asam laktat tidak sekuat asam asetat tetapi lebih fleksibel di mana elongasinya jauh lebih besar. Dalam hal ini, asam laktat turut berperan sebagai *plasticizer*. Tidak hanya itu, film kitosan yang dibuat dengan asam laktat lebih aman dan tidak menimbulkan iritasi.

2.4.4. Sambung Silang Kitosan Secara Ionik

Kitosan merupakan polimer kationik, sehingga reaksi dengan komponen yang bermuatan negatif, baik ion maupun molekul, dapat menyebabkan pembentukan *network* melalui jembatan ionik antara rantai polimer, yang dapat ditunjukkan dengan spektrum IR, titrasi turbidimetri atau viskosimetri. Penyambung silang yang digunakan adalah ion atau molekul ionik yang diketahui berat molekulnya (Berger, 2004).

Selain muatan positif dari gugus amonium kitosan, gugus hidroksil kitosan juga dapat bereaksi dengan penyambung silang ionik. Interaksi lain seperti interaksi hidrofobik dapat terjadi dalam *network* dengan menurunnya derajat deasetilasi (DD) kitosan atau ikatan hidrogen dalam rantai karena menurunnya gaya tolak elektrostatis setelah netralisasi kitosan oleh penyambung silang (Berger, 2004).

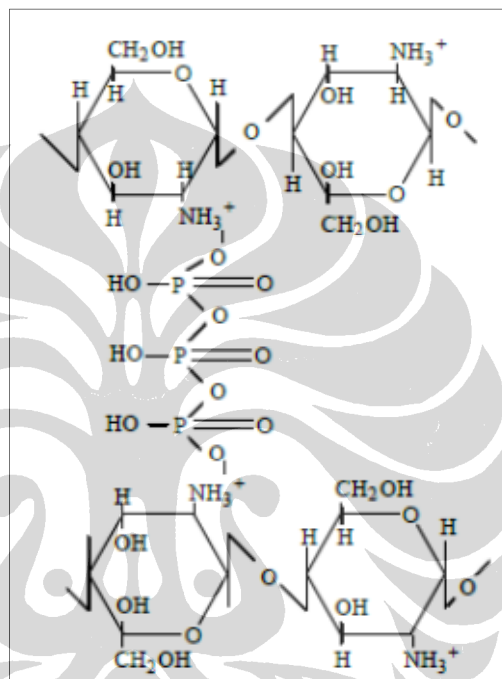
Sambung silang ionik kitosan memerlukan *counter-ion* anionik atau molekul anion seperti tripolifosfat untuk membentuk jembatan antara rantai polimer. Penambahan polimer yang tidak bereaksi ke dalam *network*, seperti gelatin, memungkinkan dan dapat menyebabkan pembentukan struktur *semi-*

interpenetrating network (semi-IPN). Sambung silang kitosan dengan sulfat atau sitrat dapat menyebabkan presipitasi (Berger, 2004).

Prosedur sambung silang ionik sederhana dan mudah serta tidak membutuhkan katalis, sehingga sangat menarik untuk diaplikasikan dalam bidang medis atau farmasi. Sambung silang ionik dapat dibuat dengan melarutkan atau mendispersikan penyambung silang ke dalam larutan kitosan. Metode ini menyebabkan pembentukan hidrogel yang homogen dengan reaksi sambung silang yang acak. Metode lain untuk sambung silang ionik kitosan telah dikembangkan untuk mengatur sifat hidrogel, seperti pelepasan obat. Kitosan dapat disambung silang dengan memasukkan film kitosan ke dalam larutan penyambung silang, misalnya melalui *syringe*. Metode ini akan menginduksi pembentukan sistem yang mirip dengan partikel gel (Berger, 2004).

Kerapatan ikatan silang merupakan parameter utama yang mempengaruhi sifat penting hidrogel, seperti kekuatan mekanik, daya mengembang, dan pelepasan obat yang dipengaruhi oleh kondisi reaksi. Reaksi sambung silang terutama dipengaruhi oleh ukuran penyambung silang serta muatan kitosan dan penyambung silang selama reaksi. Ukuran penyambung silang yang lebih kecil, lebih cepat bereaksi karena lebih mudah berdifusi. Kerapatan muatan ion dan molekul ionik dipengaruhi oleh kondisi yang berbeda. Kerapatan muatan ion tergantung pada bilangan oksidasi dan tidak bergantung pada pH, sedangkan molekul ionik, kerapatan muatannya tergantung pada nilai pK_a dan pH larutan selama reaksi, seperti halnya kitosan. Kerapatan muatan kitosan dan penyambung silang harus cukup tinggi untuk menyebabkan interaksi dan pembentukan hidrogel. Hal ini berarti pH reaksi harus berada di antara pK_a kitosan dan penyambung silang. Penggunaan penyambung silang dengan kerapatan muatan yang tinggi seperti tripolifosfat harus hati-hati. Untuk mendapatkan sifat daya mengembang yang tergantung pada pH menggunakan penyambung silang ini, sebaiknya reaksi dibuat tidak sempurna. Hal ini dapat dicapai dengan waktu reaksi yang pendek dan konsentrasi penyambung silang yang rendah. Proses reaksi sambung silang kitosan dan tripolifosfat dapat diketahui dengan mengukur pH larutan, karena selama reaksi tripolifosfat akan melepaskan OH^- (Berger, 2004).

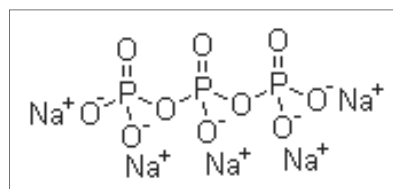
Sambung silang ionik menghasilkan hidrogel yang menunjukkan sifat daya mengembang yang sensitif pH dan pelepasan obat terjadi dengan difusi. Semakin tinggi kerapatan sambung silang, daya mengembang dan sensitivitas terhadap pH semakin kecil sehingga pelepasan obat pun semakin kecil. Hidrogel yang dihasilkan dari sambung silang ionik dapat mengembang baik dalam suasana asam maupun basa (Berger, 2004).



[Sumber: Bhumkar & Pokharkar, 2006]

Gambar 2.5. Sambung silang ionik kitosan dengan tripolifosfat

2.5. Natrium Tripolifosfat (STPP)



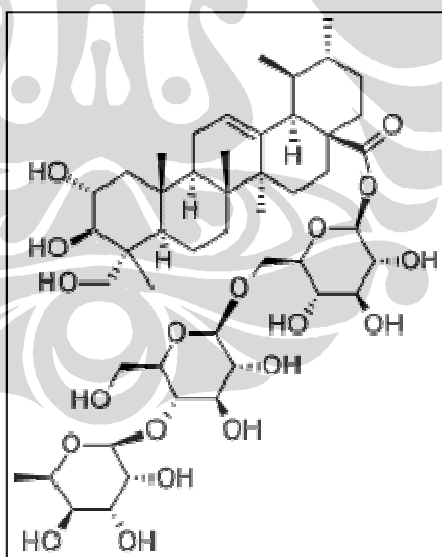
[Sumber: Chemical Book, 2010]

Gambar 2.6. Struktur molekul natrium tripolifosfat

Natrium tripolifosfat atau pentanatrium trifosfat ($\text{Na}_5\text{O}_{10}\text{P}_3$) memiliki berat molekul 367,86; berupa kristal, granul, atau serbuk berwarna putih atau tidak berwarna; titik leleh $622\text{ }^\circ\text{C}$ (Chemical Book, 2010); kelarutan dalam air 20 g/100 ml $25\text{ }^\circ\text{C}$ dan 86,5 g/100 ml pada $100\text{ }^\circ\text{C}$; pH 1% larutan pada $25\text{ }^\circ\text{C}$ 9,7-9,8 (Merck, 2001); $\text{pK}_1 = 1$, $\text{pK}_2 = 2$, $\text{pK}_3 = 2,79$, $\text{pK}_4 = 6,47$ dan $\text{pK}_5 = 9,24$ (Lam *et al.*, 2006); bersifat sedikit higroskopis dan inkompatibel dengan oksidator kuat dan asam kuat (Chemical Book, 2010). Pada pemanasan yang terus-menerus, larutan STPP dapat berubah menjadi ortofosfat (Merck, 2001).

STPP merupakan polianion dan dapat berinteraksi dengan kitosan kationik dengan gaya elektrostatis (Pati *et al.*, 2010). Selain itu, STPP juga dapat digunakan sebagai *emulsifier*, *dispersing agent*, dan preservatif dalam makanan (Merck, 2001).

2.6. Asiatikosida



[Sumber: chemicalbook.com, 2010]

Gambar 2.7. Struktur molekul asiatikosida

Asiatikosida merupakan glikosida triterpen yang diisolasi dari tanaman *Centella asiatica* (L.) Urban. Senyawa yang dikenal juga dengan nama madekasol ini memiliki rumus molekul $\text{C}_{48}\text{H}_{78}\text{O}_{19}$ dan berat molekul 959,12. Asiatikosida

berbentuk serbuk berwarna putih hingga kuning terang; stabil pada kondisi normal dan memiliki waktu paruh 2 tahun jika disimpan dalam wadah yang sesuai; titik lelehnya 235–238 °C; larut dalam alkohol dan piridin, tetapi tidak dapat larut dalam air (TwFTA.Com, 2010).

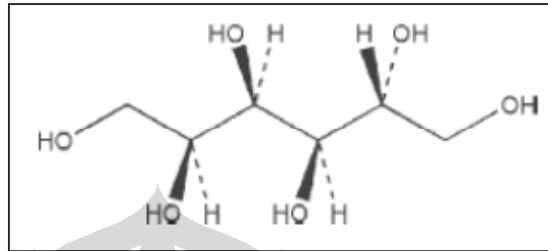
Asiatikosida ini telah dilaporkan dapat menyembuhkan luka, luka bakar, dan kelainan kulit berupa ulkus, mengobati tukak lambung dan duodenum, dan efektif dalam mengobati kusta, lupus, *scleroderma*, dan penyakit vena. Di antara empat komponen triterpenoid *C. asiatica* (asam asiatat, asiatikosida, asam madekasat, dan madekasosid), asiatikosida diduga merupakan senyawa paling aktif sehubungan dengan kemampuannya dalam menyembuhkan luka, karena dibuktikan dengan pengamatan meningkatnya kadar antioksidan pada tahap awal penyembuhan luka kulit tipe eksisi (pemotongan) pada tikus, pengamatan meningkatnya proliferasi dan produksi mRNA prokolagen tipe I dan III dan kadar protein fibroblas dermis manusia, dan stimulasi akumulasi matriks ekstraselular pada luka hewan uji sebagai respon terhadap adanya substansi ini (Shukla *et al.*, 1999).

Shukla *et al.* melaporkan bahwa pemberian asiatikosida secara topikal pada hewan uji normal maupun diabetes dan pemberian oral pada hewan uji normal meningkatkan laju penyembuhan luka secara signifikan melalui peningkatan sintesis kolagen dan kekuatan tarik jaringan luka. Maquart *et al.* juga melaporkan adanya peningkatan sintesis kolagen dalam fibroblas pada pengujian asiatikosida secara *in vitro*. Selain meningkatkan sintesis kolagen, asiatikosida juga dapat meningkatkan proliferasi fibroblas dan proses epitelisasi, serta mempercepat proses angiogenesis sehingga pembuluh darah yang baru segera terbentuk dan mempercepat proses penyembuhan luka (Shukla *et al.*, 1999).

2.7. Sorbitol

Sorbitol atau D-glusitol merupakan alkohol heksahidrat yang isomerik dengan manitol. Sorbitol tidak berbau, putih atau hampir tidak berwarna, berbentuk kristal, serbuk higroskopis. Empat kristal polimorf dan satu bentuk amorf telah diidentifikasi yang memiliki sifat fisik yang sedikit berbeda, seperti

titik leleh. Sorbitol anhidrat memiliki titik leleh 110-112 °C, gamma polimorf 97,7 °C, dan bentuk metastabil 93 °C. Sorbitol tersedia dalam berbagai grade dan bentuk polimorf, seperti granul, serpihan, atau pelet (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).



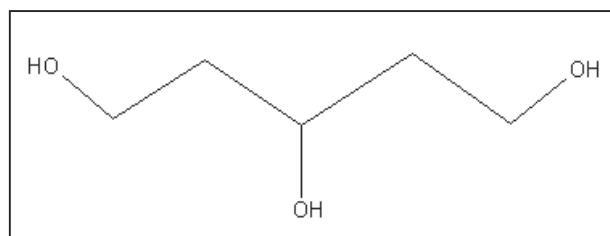
[Sumber: Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009]

Gambar 2.8. Struktur molekul sorbitol

Sorbitol secara kimia relatif inert dan kompatibel dengan banyak eksipien. Sorbitol stabil di udara, dalam asam dan basa encer. Sorbitol tidak terurai pada temperatur tinggi atau dengan adanya amin, tidak mudah terbakar, tidak korosif, dan tidak menguap (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).

Sorbitol telah digunakan sebagai *plasticizer* dalam formulasi film. Pada film pati, penggunaan sorbitol yang dikombinasikan dengan gliserol sebagai *plasticizer* dapat meningkatkan stabilitas film dalam hal penampilan secara visual, kristalinitas, elastisitas, dan permeabilitas uap air (Krogars, 2003).

2.8. Gliserin



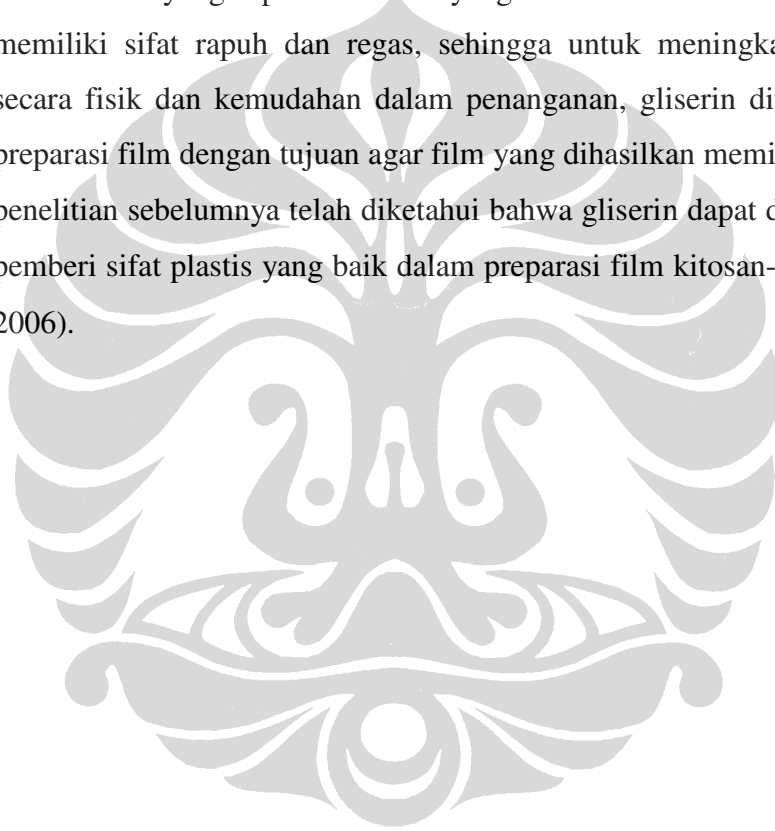
[Sumber: Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009]

Gambar 2.9. Struktur molekul gliserin

Gliserin berbentuk cairan jernih kental yang tidak berwarna, tidak berbau, memiliki rasa manis dan bersifat higroskopis (Rowe, Sheskey & Quinn, 2009).

Penggunaannya pada formulasi sediaan farmasi antara lain sebagai humektan, emolien, kosolven dan pelarut pada sediaan cair dan setengah padat. Sedangkan pada produksi kapsul gelatin lunak, gliserin digunakan sebagai zat pemberi sifat plastis (*plasticizer*) (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).

Sifat gliserin yang dapat digunakan sebagai zat pemberi sifat plastis ini dimanfaatkan pada penelitian ini untuk meningkatkan sifat plastis dari film kitosan-TPP yang diperoleh. Film yang nanti akan dihasilkan diperkirakan akan memiliki sifat rapuh dan regas, sehingga untuk meningkatkan penampilannya secara fisik dan kemudahan dalam penanganan, gliserin ditambahkan pada saat preparasi film dengan tujuan agar film yang dihasilkan memiliki sifat plastis. Pada penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa gliserin dapat digunakan sebagai zat pemberi sifat plastis yang baik dalam preparasi film kitosan-TPP (Eroğlu & Öner, 2006).



BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Farmaseutika Departemen Farmasi FMIPA UI, Laboratorium Bioavailabilitas dan Bioekivalensi Program Studi Farmasi FKIK UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Laboratorium Kesehatan Lingkungan Program Studi Kesehatan Masyarakat FKIK UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, dan *Animal House* Program Studi Pendidikan Dokter FKIK UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Laboratorium Jasa Analisis Pangan Departemen ITP-Fateta IPB, dan P3TIR BATAN Pasar Jum'at. Penelitian dilaksanakan dari bulan April 2011 hingga Mei 2012.

3.2. Bahan

Kitosan (PT. Biotech Surindo, Indonesia; berat molekul sedang, derajat deasetilasi 92,2%), natrium tripolifosfat (Wako, Jepang), asiatikosida (Xi'an Guanyo Bio-tech, Cina), asiatikosida standar (Sigma Aldrich, Jepang), gliserin (Wako, Jepang), sorbitol (Wako, Jepang), Dulco's PBS (Wako, Jepang), natrium hidroksida (Merck, Indonesia), asam laktat (Bratachem, Indonesia), asam asetat glacial (Merck, Indonesia), metanol grade HPLC (Merck, Indonesia), air suling, Madecassol Salep 1% (Syntex, Perancis), alkohol 70%, Xylazine 2% (PT. Tekad Mandiri Citra), Ketamin HCl 10% (Guardian Pharmatama), dan silika gel.

3.3. Alat

Pengaduk magnetik (Advantec SRS710HA, Jepang), oven (Eyela NDO-400, Jepang), desikator, mikrometer digital (Mitutoyo, Jepang), *tensile tester* Strograph-R1 (Toyoseiki, Jepang), alat potong *dumb bell* (Saitama dengan standar ASTM-D 1822-1, Jepang), *texture analyzer* (TA-XT2i), timbangan analitik (AND GH-202, Jepang), HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) (Ultimate 3000 Dionex, Jerman), kolom Acclaim[®] C18 250 x 4,6 mm (Dionex, Jerman), pH

meter (Horiba F-52), viskotester Haake 6^R, spektrometer FTIR (*Fourier Transform Infrared*) (Jasco 6100, Jepang), *ultrasonic cleaner* (Branson 5510, Jepang), mikropipet (Eppendorf, Jerman), mikroskop optik (Olympus IX 71, Jepang), *ace homogenizer* AM-77 (Nissei, Japan), *water bath*, alat bedah, kandang hewan, buret, saringan membran 0,22 μm (Sartorius), spuit, dan alat-alat gelas yang biasa dipakai di laboratorium.

3.4. Cara Kerja

3.4.1. Penelitian Pendahuluan

3.4.1.1. Optimasi Pembuatan Sediaan Film

Optimasi ini dilakukan untuk memperoleh sediaan film dengan derajat ikatan silang yang merata dan homogen secara visual.

a. Pemilihan Konsentrasi Larutan Tripolifosfat pada Pembuatan Sambung Silang Kitosan-Tripolifosfat

Dibuat larutan kitosan 1% b/v dalam asam laktat 1% v/v. Larutan disaring menggunakan saringan kain yang dibantu dengan vakum untuk menghilangkan partikel pengotor yang tidak larut, kemudian pH-nya diperiksa. Larutan disimpan sampai gelembung udaranya hilang. Sodium tripolifosfat sebanyak 10 mg ditambahkan berupa larutan 0,05%; 0,1%; 0,5%; dan 1% b/v ke dalam 20 ml larutan kitosan 1% b/v secara perlahan-lahan melalui buret selama 30 menit sambil diaduk dengan pengaduk magnetik pada kecepatan sedang. Diamati dispersi/koloid yang terbentuk secara visual. Gliserin sebanyak 100% v/b kitosan ditambahkan ke dalam campuran kitosan. Campuran dikeringkan dalam oven bertemperatur 60 °C sampai kering. Diamati penampilan dan homogenitas film yang dihasilkan.

b. Pemilihan pH Cairan Pembentuk Film (CPF)

pH campuran akan mempengaruhi pH akhir dari film yang dihasilkan. pH yang terlalu asam dari pelarut kitosan (asam laktat) dikhawatirkan dapat menimbulkan iritasi pada daerah luka. Oleh karena itu, perlu dioptimasi pH CPF

yang dapat meminimalisir efek iritasi tetapi masih dapat menjaga homogenitas film yang dihasilkan.

Sebanyak 20 ml larutan kitosan 1% b/v dalam asam laktat 1% v/v ditambahkan dengan 10 ml larutan TPP 0,1% b/v dengan cara yang sama seperti pada percobaan 3.4.1.1. bagian a. Campuran yang dihasilkan dititrasi dengan natrium hidroksida 0,1 N hingga serat-serat halus mulai terbentuk. pH campuran kemudian diperiksa dengan pH meter. Setelah itu, campuran ditambahkan dengan 200 μ l gliserin dan diaduk hingga homogen. Campuran dihilangkan gelembungnya kemudian dituang ke dalam wadah dengan alas berukuran 6x6 cm² dan dikeringkan dalam oven 60 °C selama 24 jam (sampai kering). Film yang dihasilkan kemudian diamati homogenitasnya.

c. **Pemilihan Konsentrasi Larutan Kitosan pada Pembuatan Sambung Silang Kitosan-Tripolifosfat**

Dibuat larutan kitosan 1% dan 1,8% b/v dalam asam laktat 1%. Larutan disaring menggunakan saringan kain yang dibantu dengan vakum untuk menghilangkan partikel pengotor yang tidak larut, kemudian pH-nya diperiksa. Larutan disimpan sampai gelembung udaranya hilang. Sebanyak 10 ml dan 18 ml larutan tripolifosfat 0,1% b/v (konsentrasi optimum) secara berturut-turut ditambahkan ke dalam 20 ml larutan kitosan 1% dan 1,8% b/v secara perlahan-lahan melalui buret selama 30 menit sambil diaduk dengan pengaduk magnetik pada kecepatan tinggi. Diamati dispersi/koloid yang terbentuk secara visual. Campuran ditambahkan natrium hidroksida 0,1 N hingga pH 5 tetes demi tetes melalui buret sambil diaduk dengan stirer. Gliserin sebanyak 100% v/b kitosan ditambahkan ke dalam campuran kitosan. Campuran dikeringkan dalam oven bertemperatur 60 °C sampai kering. Amati penampilan dan homogenitas film yang dihasilkan.

d. **Pemilihan pH Larutan Kitosan**

Sebanyak 20 ml larutan kitosan 1% b/v (konsentrasi optimum) dalam asam laktat 0,75% diperiksa pH-nya, kemudian ditambahkan larutan tripolifosfat 0,1% (konsentrasi optimum) sebanyak 10 ml dengan cara yang sama seperti percobaan

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Uji Pendahuluan

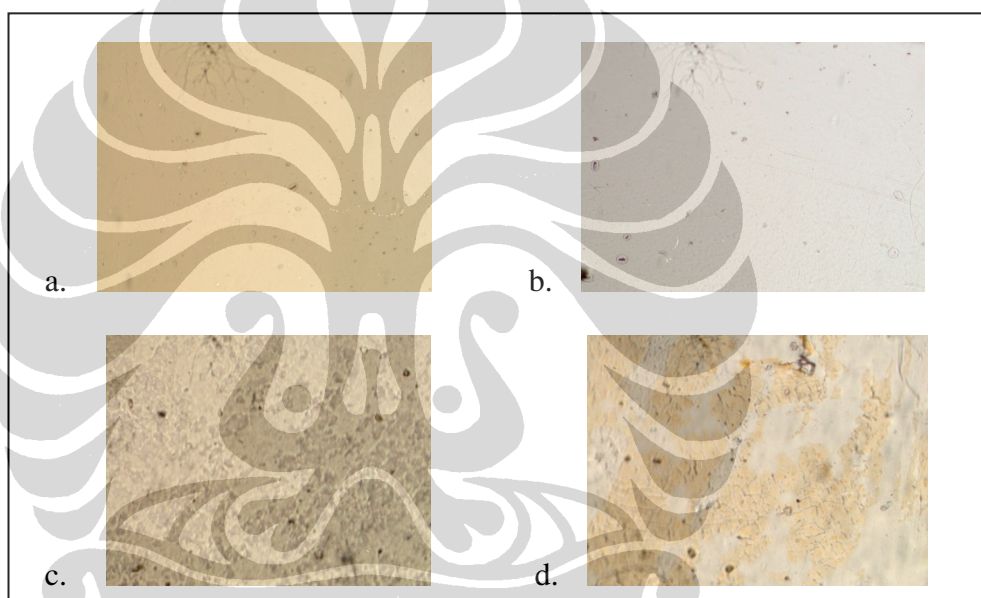
4.1.1. Kondisi Pembuatan Sediaan Film yang Optimum

Suatu polimer membutuhkan struktur kimia dalam molekulnya yang memberikan kelarutan dalam medium tertentu. Sifat polimer ini penting untuk pembentukan suatu film (Osterwald, 1984). Polimer kitosan hanya dapat larut dalam suasana asam sehingga memungkinkan gugus NH_2 -nya terprotonasi menjadi kation NH_3^+ yang penting untuk kelarutannya. Dalam reaksi ikatan silang antara kitosan dan tripofosfat, gugus kationik kitosan berikatan dengan gugus anionik dari tripolifosfat yang menyebabkan pembentukan molekul besar dan berdampak pada kekeruhan. Bentuk partikel endapan yang dihasilkan ternyata sangat mempengaruhi homogenitas tekstur film yang dihasilkan.

Tabel 4.1. Sifat cairan pembentuk film (CPF) dan film yang dihasilkan dari reaksi ikatan silang kitosan-tripolifosfat dengan variasi konsentrasi larutan tripolifosfat

	Konsentrasi Larutan Tripolifosfat			
	0,05%	0,1%	0,5%	1%
Bentuk CPF	Koloidal, agak keruh tanpa terlihat bentuk partikelnya	Koloidal, agak keruh tanpa terlihat bentuk partikelnya	Dispersi dengan serat-serat sangat kecil	Dispersi dengan serat-serat kecil
Homogenitas film	Homogen	Homogen	Kurang homogen	Tidak homogen
Tekstur	Halus	Halus	Agak kasar	Kasar
Kekuatan tarik (N/cm^2)	218,17	297,25	239,92	172,11
Elongasi (%)	130,00	216,67	136,67	216,67

Dari penelitian pendahuluan yang mencobakan variasi konsentrasi larutan tripolifosfat dan kitosan menunjukkan bahwa reaksi ikatan silang yang menghasilkan dispersi serat menghasilkan film dengan permukaan yang kurang homogen dan bertekstur kasar. Sebaliknya, hasil reaksi ikatan silang berupa koloidal halus tanpa pembentukan serat kasar menghasilkan permukaan film yang homogen dan bertekstur halus. Tidak hanya itu kekuatan tarik film yang dihasilkan juga berbeda. Larutan tripolifosfat dengan konsentrasi 0,1% menghasilkan film dengan kekuatan tarik paling besar. Selain itu, teksturnya juga halus dan permukaannya homogen sehingga diperkirakan ikatan silang yang terbentuk lebih merata.



Keterangan: a. Larutan TPP 0,05%; b. Larutan TPP 0,1%; c. Larutan TPP 0,5%; d. Larutan TPP 1%

Gambar 4.1. Gambar mikroskopik film dengan variasi konsentrasi larutan tripolifosfat (TPP) (perbesaran 100x)

Hal yang serupa juga terjadi pada saat mencobakan dua konsentrasi larutan kitosan yang berbeda. Larutan kitosan 1% menghasilkan CPF berbentuk koloidal halus tanpa adanya serat sedangkan pada larutan kitosan 1,8% terbentuk dispersi dengan serat-serat kecil sehingga film yang dihasilkan juga teksturnya kasar dan tidak homogen.

Pada uji pendahuluan juga dicobakan pH larutan kitosan dan larutan tripolifosfat yang berbeda. Larutan kitosan 1% dengan pH 3,58 menghasilkan film yang lebih homogen daripada larutan kitosan 1% pH 3,86. Hal ini disebabkan oleh suasana yang lebih basa menyebabkan proses pengendapan menjadi lebih cepat. Hal ini sesuai dengan sifat kitosannya sendiri yang lebih larut dalam suasana yang lebih asam karena lebih banyak $-NH_2$ yang terprotonasi sehingga menunjang kelarutannya.

Pada uji pendahuluan yang mencobakan dua pH larutan tripolifosfat yang berbeda yaitu pada pH 9,45 dan 3,68 hasilnya menunjukkan pembentukan CPF yang tidak terlalu berbeda dan film yang dihasilkan juga tidak terlalu berbeda. Secara teoritis pada pH asam, tripolifosfat akan lebih banyak membentuk ion tripolifosfat sehingga derajat ikatan silang yang dihasilkan lebih besar. Namun, dari hasil percobaan kekuatan tarik keduanya tidak jauh berbeda, bahkan lebih tinggi kekuatan tarik film yang dihasilkan oleh larutan tripolifosfat pada pH 9,45 ($292,4 \text{ N/cm}^2$) dibandingkan pH 3,68 ($271,9 \text{ N/cm}^2$) walaupun tidak terlalu besar perbedaannya.

Nilai pH CPF akan mempengaruhi pH akhir film karena asam laktat yang tertinggal dalam film. Film yang terlalu asam dikhawatirkan akan mengiritasi luka meskipun pada penelitian Khan, Peh, & Ch'ng (2000) menunjukkan bahwa film yang dibuat dengan asam laktat tidak menimbulkan iritasi. Oleh karena itu, pH CPF diatur dengan penambahan natrium hidroksida 0,1 N hingga pH 5. Pada pH di atas 5,2, CPF menjadi tidak homogen karena terbentuk serat-serat yang menyebabkan film yang dihasilkan juga menjadi tidak homogen. Hal ini disebabkan oleh sifat kitosan yang memang lebih larut dalam suasana yang lebih asam (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).

Dari hasil uji pendahuluan ini diperoleh kondisi yang optimum untuk pembentukan ikatan silang sehingga dihasilkan film yang homogen. Kondisi optimum tersebut yaitu konsentrasi larutan tripolifosfat dan larutan kitosan berturut-turut 0,1% dan 1%, dan pH larutan tripolifosfat dan larutan kitosan berturut-turut 9,56 dan 3,58 dengan pH CPF disesuaikan sampai pH 5 dengan penambahan natrium hidroksida 0,1 N.

4.1.2. Komposisi dan Konsentrasi *Plasticizer* yang Optimum

Plasticizer memiliki peran yang cukup penting untuk menghasilkan film yang lebih fleksibel, lentur, dan tidak kaku. Sifat-sifat ini diperlukan oleh penutup luka agar dapat digunakan secara nyaman dan mudah disesuaikan dengan kontur luka. Beberapa *plasticizer* yang aman dan sudah banyak digunakan pada penutup luka adalah gliserin, sorbitol, atau campuran keduanya. Pada uji pendahuluan ini diujikan ketiga *plasticizer* tersebut. Pada konsentrasi 100%, film yang menggunakan gliserin menunjukkan adanya migrasi gliserin yang terlihat dari permukaan film yang basah dan lengket, sedangkan film yang menggunakan sorbitol 70% bersifat kaku, kurang lentur sehingga kurang nyaman apabila dipake sebagai penutup luka. Film yang menggunakan *plasticizer* campuran keduanya (1:1) memiliki kelenturan yang cukup dan permukaannya tidak terlalu basah. Setelah dicoba dikurangi kadarnya menjadi 50%, film yang menggunakan gliserin masih terlihat migrasi, film yang menggunakan sorbitol 70% semakin kaku, dan film yang menggunakan campuran *plasticizer* cukup bagus, tidak terlihat migrasi tetapi agak kurang lentur. Pada akhirnya dicoba lagi film dengan menggunakan *plasticizer* campuran pada konsentrasi 75%. Film yang dihasilkan lebih lentur tetapi juga tidak terlalu terlihat adanya migrasi.

4.2. Preparasi Film

Preparasi film dilakukan pada kondisi optimum yang diperoleh dari uji pendahuluan. Penampilan film F1, F2, F3, dan F4 tidak berbeda. Semua tampak sama seperti Gambar 4.2. di bawah ini.



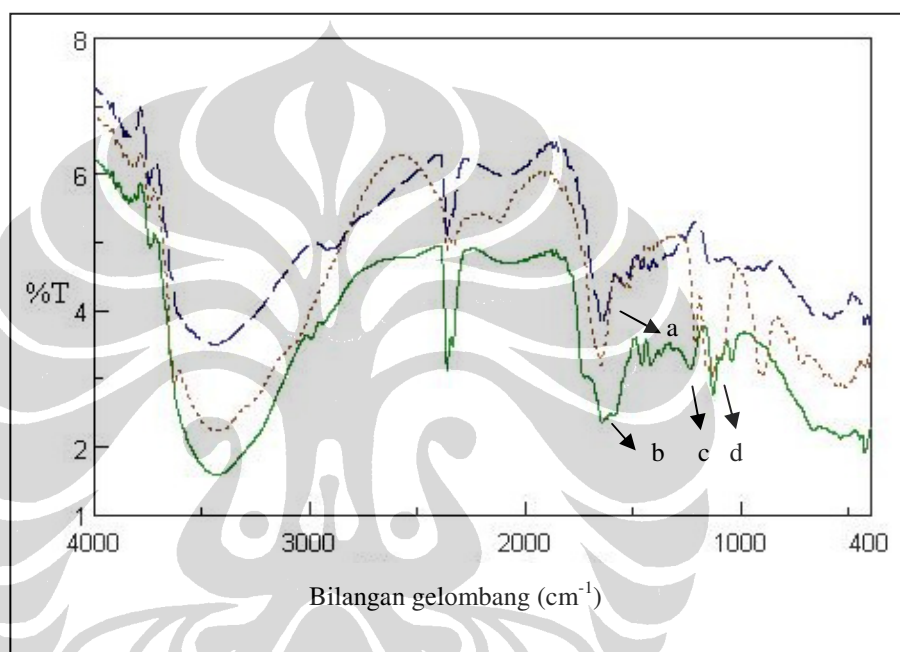
Gambar 4.2. Film sambung silang kitosan yang mengandung asiatikosida (F2)

4.3. Karakteristik Cairan Pembentuk Film

4.3.1. Konfirmasi Pembentukan Ikatan Silang

Pembentukan ikatan silang dapat dikonfirmasi melalui analisis gugus fungsi dengan spektroskopi FTIR dan melalui analisis kekeruhan dengan uji turbidimetri.

4.3.1.1. Analisis Gugus Fungsi dengan Spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infrared*)



Keterangan: — kitosan; — kitosan-tripolifosfat; sodium tripolifosfat; a. $1644,02\text{ cm}^{-1}$ dan $1548,56\text{ cm}^{-1}$ gugus amida I (C-O) dan amida II (N-H); b. $1643,05\text{ cm}^{-1}$ dan $1594,84\text{ cm}^{-1}$ puncak baru hasil interaksi amida dari kitosan dan gugus fosfat; c. $1235,18\text{ cm}^{-1}$ gugus fosfat (P-O); d. $1127,19\text{ cm}^{-1}$ gugus fosfat (P=O)

Gambar 4.3. Spektrum FTIR kitosan, kitosan-tripolifosfat, dan natrium tripolifosfat

Analisis gugus fungsi dilakukan dengan alat *Fourier Transform Infrared* (FTIR). Spektrum IR kitosan dan kitosan-tripolifosfat dapat dilihat pada Gambar 4.3. Spektrum IR kitosan dan kitosan-tripolifosfat menunjukkan puncak pada daerah $3500\text{--}3700\text{ cm}^{-1}$ yang menandakan adanya gugus -OH yang diduga menutupi puncak -NH₂ karena terbentuknya pita agak lebar pada daerah bilangan gelombang yang sama. Pada spektrum IR kitosan tampak puncak pada $1644,02$

cm^{-1} dan $1548,56 \text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya gugus amida I (C-O) dan amida II (N-H). Pada spektrum kitosan-tripolifosfat terlihat ada puncak baru pada $1594,84 \text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan ada interaksi antara ion tripolifosfat dengan ion $-\text{NH}_3^+$ dari kitosan. Selain itu juga muncul puncak dari fosfat pada $1235,18 \text{ cm}^{-1}$ dan $1127,19 \text{ cm}^{-1}$ yang berturut-turut menunjukkan adanya P-O dan P=O (Lam *et al.*, 2006).

4.3.1.2. Uji Turbidimetri

Uji turbidimetri memang tidak bisa melihat secara spesifik ikatan silang antara kitosan dan tripolifosfat tetapi salah satu tanda bahwa ikatan silang antara keduanya terbentuk adalah dengan melihat kekeruhannya. Semakin banyak ikatan silang yang terjadi, kekeruhannya semakin meningkat. Dari hasil percobaan terlihat CPF F1 memberikan nilai % kekeruhan ($100-\%T$) yang paling kecil sedangkan CPF F2, F3, dan F4 % kekeruhannya semakin meningkat. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan tripolifosfat ke dalam larutan kitosan menyebabkan terjadinya reaksi ikatan silang yang jumlahnya semakin banyak dengan semakin banyaknya tripolifosfat yang ditambahkan.

Tabel 4.2. Persentase kekeruhan cairan pembentuk film (CPF) dari keempat formula

Formula	% Kekeruhan ($100-\%T$)
F1	12,0
F2	28,8
F3	49,6
F4	60,8

4.3.2. Viskositas Cairan Pembentuk Film (CPF)

Viskositas CPF semakin menurun dengan semakin banyaknya tripolifosfat yang ditambahkan. Hal ini dapat disebabkan oleh volume total cairan yang dihasilkan lebih banyak karena tripolifosfat ditambahkan berupa larutan 0,1% sehingga menjadi lebih encer.

Tabel 4.3. Viskositas cairan pembentuk film (CPF) dari keempat formula

Formula	Viskositas (cPs)
F1	43
F2	35
F3	28
F4	19

4.4. Karakteristik Film

4.4.1. Ketebalan Film

Ketebalan film yang dihasilkan kurang homogen terlihat dari simpangan baku tebal satu film cukup besar. Ketebalan film sangat dipengaruhi oleh kemiringan oven. Cukup sulit mengatur kemiringan ini sehingga film yang diperoleh tidak homogen ketebalannya. Antara film satu formula saja terdapat variasi ketebalan apalagi dengan formula lain. Semakin banyak tripolifosfat yang ditambahkan terlihat ketebalannya semakin meningkat. Tidak terdapat syarat khusus ketebalan pembalut luka. Semuanya disesuaikan dengan fungsi dan tujuan penggunaannya.

Tabel 4.4. Ketebalan keempat formula film

Sampel	Tebal (μm)			
	F1	F2	F3	F4
1	134 \pm 24	147 \pm 20	147 \pm 20	144 \pm 13
2	130 \pm 19	136 \pm 18	140 \pm 16	155 \pm 16
3	140 \pm 23	127 \pm 24	151 \pm 13	150 \pm 10
Rata-rata	135 \pm 5	137 \pm 10	146 \pm 6	150 \pm 6

4.4.2. Sifat Mekanik Film

Pada uji sifat mekanik dilakukan pengujian kekuatan tarik (*tensile strength*) dan perpanjangan pada saat putus (*elongation at break*). Dalam kondisi kering kekuatan tarik film jauh lebih besar dibandingkan dalam kondisi lembab.

Adanya air dalam jumlah yang besar dalam film menyebabkan kekuatannya menurun drastis. Hal ini disebabkan oleh ikatan antarpolimernya semakin berkurang. Dalam film kitosan, ikatan antarpolimer didominasi oleh ikatan hidrogen dari gugus $-OH$ dan gugus $-NH_2$ (Uragami, Matsuda, Okuno & Miyata, 1994). Pada saat air masuk, ikatan hidrogen juga terbentuk antara air dengan polimer sehingga mengurangi ikatan antarpolimer. Air dapat berperan sebagai *plasticizer* yang membentuk ikatan intermolekular dengan gugus hidroksil dan gugus amin yang ada pada kitosan (Dhawade & Jagtap, 2012). Adanya ikatan intermolekular air dan kitosan ini menyebabkan volume bebas dalam film meningkat sehingga dapat mengurangi kekuatan mekanik film (Harsunu, 2008). Selain itu, film dalam kondisi lembab mengembang dan menyerap air dalam jumlah yang cukup banyak sampai 65% sehingga rongga yang terbentuk semakin banyak dan film menjadi tidak rapat. Oleh karena itu, kekuatannya menurun drastis.

Tabel 4.5. Kekuatan tarik dan perpanjangan pada saat putus keempat formula film dalam kondisi kering dan kondisi lembab

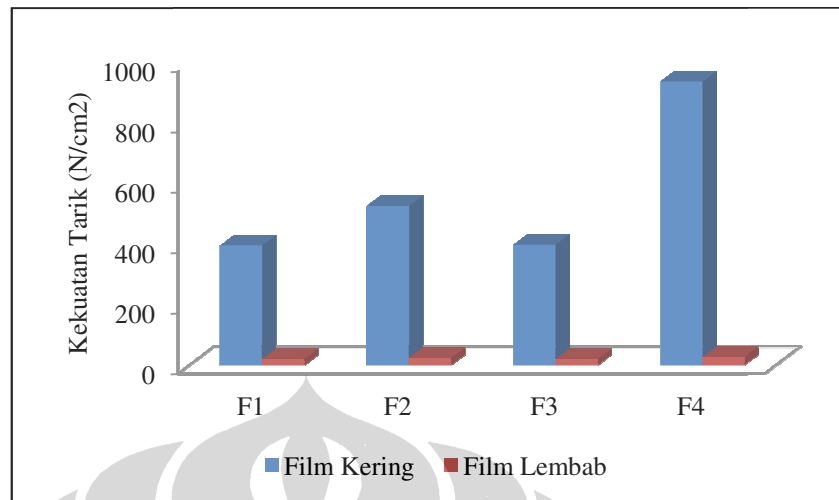
Formula	Kekuatan Tarik (N/cm^2)		Perpanjangan Putus (%)	
	FK	FL	FK	FL
F1	$396,5 \pm 9,9$	$20,5 \pm 1,9$	$62 \pm 4,5$	$60 \pm 0,0$
F2	$527,9 \pm 149,0$	$24,7 \pm 3,4$	$74 \pm 8,9$	$60 \pm 17,3$
F3	$399,1 \pm 112,3$	$20,0 \pm 2,6$	$92 \pm 16,4$	$73 \pm 11,5$
F4	$938,7 \pm 139,4$	$27,3 \pm 7,0$	$64 \pm 8,9$	$60 \pm 0,0$

Keterangan: FK = film kering; FL = film basah

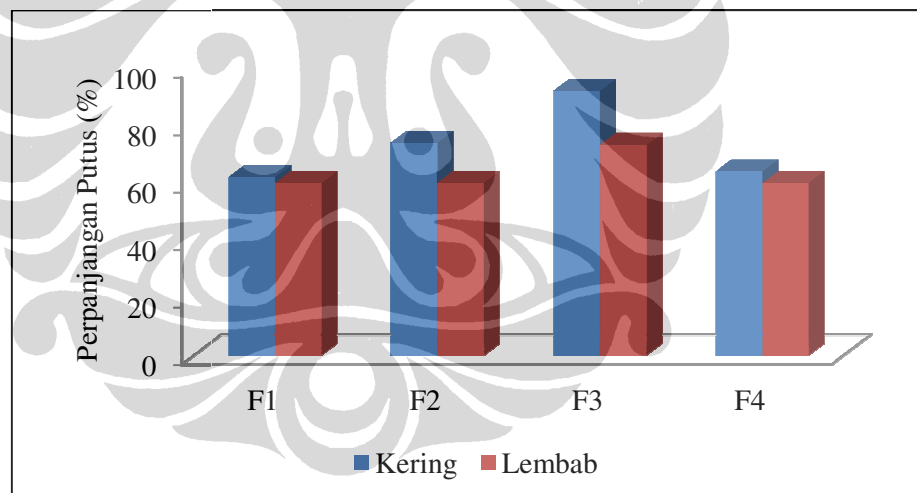
Tabel 4.6. Kadar air keempat formula film dalam kondisi kering dan kondisi lembab

Formula	Kadar Air (%)	
	FK	FL
F1	$13,9 \pm 0,8$	$67,5 \pm 1,5$
F2	$13,1 \pm 1,8$	$65,8 \pm 1,3$
F3	$14,8 \pm 0,4$	$61,3 \pm 1,6$
F4	$15,0 \pm 0,7$	$61,5 \pm 1,0$

Keterangan: FK = film kering; FL = film basah



Gambar 4.4 Kurva kekuatan tarik keempat formula film dalam kondisi kering dan kondisi lembab



Gambar 4.5. Kurva perpanjangan pada saat putus keempat formula film dalam kondisi kering dan kondisi lembab

Lain halnya dengan kekuatan tarik, perpanjangan film pada saat putus tidak berubah secara drastis karena dalam hal ini, air juga bisa berperan sebagai *plasticizer*.

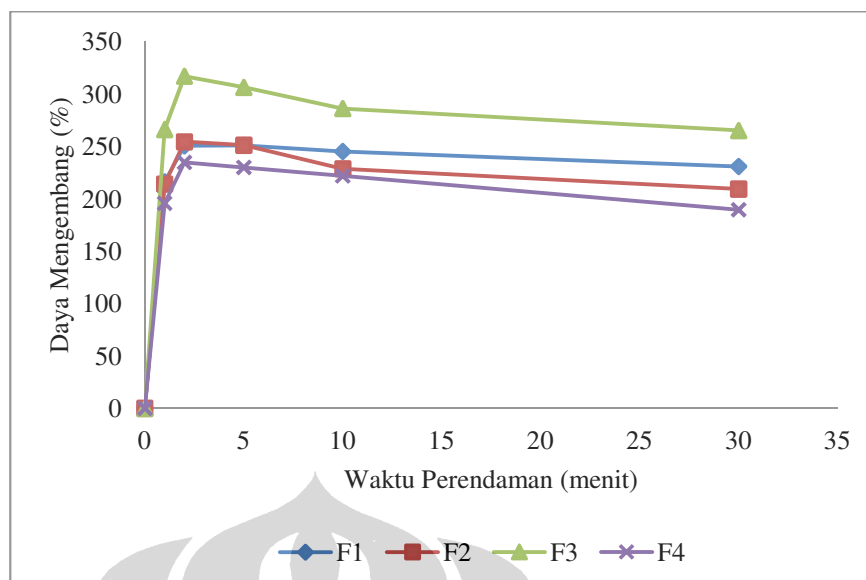
Kekuatan tarik film terbesar diberikan oleh film F4 yang memiliki derajat ikatan silang paling banyak yang menyebabkan ikatan antarpolimer kitosan semakin rapat dengan ikatan ionik. Hal ini menunjukkan bahwa adanya ikatan silang dalam film kitosan dapat meningkatkan kekuatan tarik film karena dibutuhkan gaya yang lebih besar untuk dapat memutuskan ikatan-ikatan yang jumlahnya lebih banyak tersebut. Hal ini juga senada dengan penelitian yang dilakukan oleh Varshosaz & Karimzadeh (2007).

4.4.3. Daya Mengembang Film

Tabel 4.7. Daya mengembang keempat formula film dalam medium dapar fosfat salin pH 7,4

Waktu Perendaman (Menit)	Daya Mengembang (%)							
	F1		F2		F3		F4	
0	0,00 ±	0,00	0,00 ±	0,00	0,00 ±	0,00	0,00 ±	0,00
1	215,91 ±	26,19	213,90 ±	8,50	265,86 ±	23,34	195,58 ±	31,18
2	250,29 ±	9,09	254,21 ±	13,08	316,60 ±	14,35	234,54 ±	35,47
5	250,79 ±	8,85	250,92 ±	14,19	306,12 ±	24,97	229,75 ±	39,00
10	244,92 ±	12,43	228,54 ±	15,66	285,92 ±	23,42	221,69 ±	49,49
30	230,65 ±	13,36	209,09 ±	15,13	264,90 ±	21,19	189,39 ±	33,32

Film dengan derajat ikatan silang paling banyak (F4) memiliki daya mengembang yang paling kecil. Hal ini disebabkan oleh ikatan silang yang terbentuk membuat film menjadi rigid sehingga lebih sukar mengembang. Berbeda dengan F4, F3 memiliki daya mengembang yang lebih besar daripada F1. Hal ini menunjukkan pada derajat ikatan silang yang masih rendah, film akan mengembang karena terjadi ionisasi dari ikatan antara kitosan dan tripolifosfat. Ionisasi ini akan menyebabkan tekanan osmosa di dalam film lebih besar daripada medium sehingga film menjadi lebih mengembang. Hal ini tidak terjadi pada F4 karena jumlah ikatan silang yang terbentuk terlalu banyak (rigid) sehingga kemampuan mengembang dan sensitivitasnya terhadap pH menurun dengan peningkatan stabilitas *network* (Berger *et al.*, 2004).



Gambar 4.6. Profil daya mengembang keempat formula film dalam medium dapar fosfat salin pH 7,4

Film kitosan (F1) maupun film sambung kitosan-tripolifosfat (F2-F4) mampu mengembang dengan sangat cepat dalam waktu kurang dari 5 menit. Setelah itu, ada fenomena sedikit penurunan daya mengembang. Kemampuan film untuk mengembang, baik film kitosan maupun kitosan-tripolifosfat dipengaruhi oleh pH (Berger *et al.*, 2004). Asam laktat yang tertinggal dalam film setelah film mengering mempengaruhi tingkat keasaman film. Pada saat awal perendaman, permukaan film memiliki pH yang lebih asam daripada pH medium karena mengandung asam laktat, sehingga film mengembang dengan baik. Seiring dengan berjalannya waktu perendaman, pH permukaan film mengalami kesetimbangan dengan pH medium. Dalam hal ini, pH film semakin berkurang keasamannya sedangkan pH medium meningkat keasamannya. Hal ini disebabkan karena ada difusi asam laktat dari film ke medium yang menyebabkan perubahan pH. pH film yang meningkat menyebabkan sedikit pengurangan daya mengembang film sehingga terlihat ada fenomena penurunan daya mengembang. Nilai pH permukaan film dapat dilihat pada Lampiran 6.

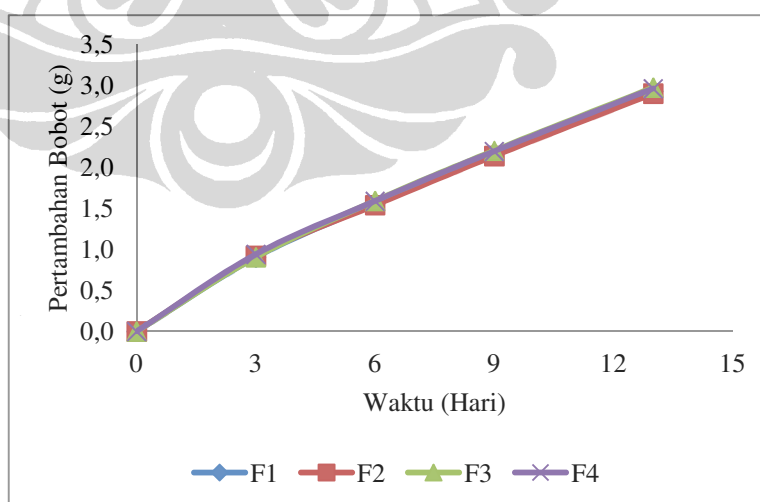
4.4.4. Laju Transmisi Uap Air melalui Film

Laju transmisi uap air atau *water vapor transmission rate* (WVTR) suatu pembalut sangat penting ditentukan untuk mengetahui kemampuannya dalam menjaga kelembaban luka dan menciptakan lingkungan yang sesuai untuk proses penyembuhan luka yang optimal (Boateng *et al.*, 2008). Dari hasil pengujian, sampel film kitosan maupun kitosan-tripolifosfat memiliki permeabilitas yang cukup tinggi terhadap uap air dan tidak ada perbedaan yang bermakna antara ke empat formula. Dalam kondisi kelembaban yang tinggi, film kitosan dan kitosan-tripolifosfat mengembang dengan cukup baik sehingga ukuran pori-pori film menjadi terbuka dan memberikan ruang yang cukup bagi uap air untuk bertransmisi.

Tabel 4.8. Laju transmisi uap air melalui keempat formula film

Formula	ΔW (g) hari ke-					WVTR ($\times 0,0001 \text{ gs}^{-1}\text{m}^{-2}$)
	0	3	6	9	13	
F1	0	$0,904 \pm 0,035$	$1,557 \pm 0,074$	$2,170 \pm 0,041$	$2,933 \pm 0,038$	$83,162 \pm 1,066$
F2	0	$0,923 \pm 0,012$	$1,541 \pm 0,031$	$2,141 \pm 0,015$	$2,902 \pm 0,049$	$82,280 \pm 1,394$
F3	0	$0,907 \pm 0,014$	$1,593 \pm 0,010$	$2,205 \pm 0,049$	$2,975 \pm 0,047$	$84,364 \pm 1,327$
F4	0	$0,941 \pm 0,064$	$1,589 \pm 0,068$	$2,197 \pm 0,065$	$2,962 \pm 0,097$	$83,987 \pm 2,745$

Keterangan: WVTR = *water vapor transmission rate*; ΔW = pertambahan bobot



Gambar 4.7. Kurva pertambahan bobot keempat formula film yang disimpan dalam wadah dengan kelembaban $95 \pm 5\%$ dan temperatur $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$

Suatu pembalut dikatakan sebagai *moisture retentive* (mampu menahan kelembaban) apabila memiliki nilai WVTR kurang dari $4,05 \times 10^{-4} \text{ g/s/m}^2$ (Moist, 2009). Hal ini berarti bahwa baik film kitosan maupun kitosan-tripolifosfat tidak termasuk sebagai *moisture retentive*.

Kenaikan bobot sampel pada awal pengujian terlihat lebih cepat dibandingkan hari-hari berikutnya. Hal ini disebabkan oleh penyerapan lembab oleh film yang cukup cepat sampai diperoleh kesetimbangan. Setelah hari ketiga, kenaikan bobot terlihat relatif konstan.

4.4.5. Kekuatan Bioadhesif Film yang Diuji Secara *In Vitro*

Adhesivitas didefinisikan sebagai gaya yang dibutuhkan untuk melepaskan sampel dari permukaan kulit yang dipotong (Tamburic & Craig, 1997). Adhesivitas penting dalam penyembuhan luka di mana pembalut sebaiknya dapat menempel sendiri di daerah luka, mudah dilepaskan, dan tidak menyakitkan pada saat dilepas (adhesivitasnya harus menurun seiring dengan waktu) (Jacques *et al.*, 1997).

Tabel 4.9. Kekuatan bioadhesif keempat formula film

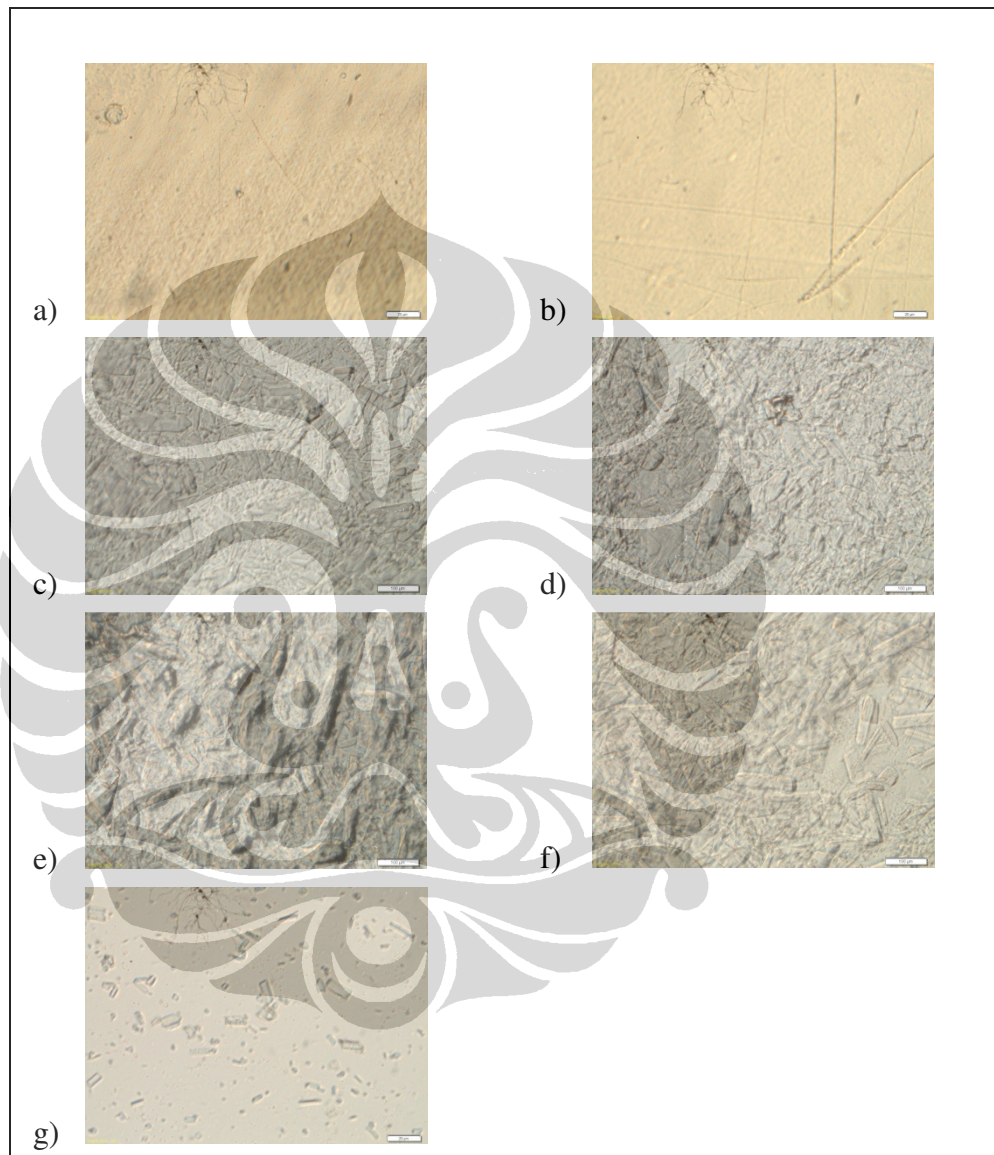
Formula	Gaya Maksimum (g)
F1	412,1 ± 34,7
F2	422,0 ± 25,2
F3	399,6 ± 32,4
F4	334,2 ± 39,0

Dari keempat formula yang diujikan hanya F4 yang menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dengan formula-formula yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa adanya sambung silang dalam film kitosan dapat menurunkan kekuatan bioadhesif yang bermakna pada kadar tripolifosfat $> 8\%$ b/b kitosan.

Kekuatan bioadhesi terhadap kulit bergantung pada faktor seperti hidrofobisitas yang dilaporkan meningkatkan bioadhesi (Martin *et al.*, 2002). Penurunan kekuatan bioadhesif pada film kitosan-tripolifosfat terhadap kulit

disebabkan oleh adanya peningkatan hidrofilisitas film dengan adanya ion tripolifosfat dan ion ammonium.

4.4.6. Analisis Mikroskopik Film



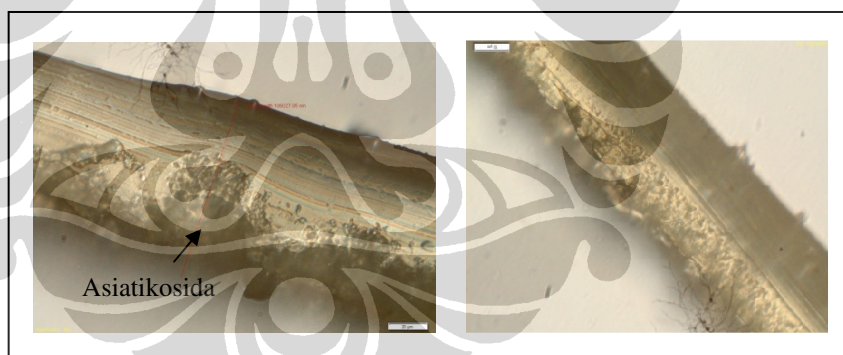
Keterangan: a) Film F1 tanpa Asiatikosida; b) Film F4 tanpa asiatikosida; c) Film F1; d) Film F2; e) Film F3; f) Film F4; g) Asiatikosida

Gambar 4.8. Gambar mikroskopik permukaan keempat formula film (perbesaran 400x)

Permukaan film keempat formula terlihat padat, rapat, dan tidak berpori. Terlihat pula partikel-partikel asiatikosida dengan bentuk yang sama seperti

aslinya. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terjadi proses rekristalisasi selama penguapan pelarut karena asiatikosida dicampurkan dalam bentuk dispersi bukan larutan. Hal ini merupakan salah satu kelebihan metode dispersi, di mana tidak terjadi perubahan sifat dari partikel asiatikosida. Dalam penelitian pendahuluan pernah dicobakan untuk menambahkan asiatikosida dalam bentuk larutan dengan melarutkannya terlebih dahulu dengan etanol. Namun, hasilnya menunjukkan terjadi rekristalisasi asiatikosida berbentuk jarum dengan ukuran yang cukup besar.

Selain memiliki kelebihan, pemberian asiatikosida dalam bentuk dispersi juga memiliki kekurangan khususnya dalam formula film yang dibuat dalam penelitian ini. Bentuk dispersi menyebabkan partikel mengendap selama proses penguapan pelarut karena viskositas CPF terlalu kecil sehingga tidak mampu menjaga homogenitas asiatikosida di dalamnya. Hal ini menyebabkan asiatikosida tidak terdistribusi secara merata di seluruh bagian film tetapi terdistribusi di bagian bawah film.



Gambar 4.9. Gambar mikroskopik sayatan melintang film sebelum (kiri) dan setelah (kanan) uji pelepasan asiatikosida (perbesaran 400x)

4.5. Pelepasan Asiatikosida dalam Medium Uji Pelepasan

Uji pelepasan asiatikosida dilakukan dalam medium dapar fosfat salin pH 7,4 yang mengandung 10% metanol. Metanol ditambahkan ke dalam medium ini untuk memfasilitasi asiatikosida agar dapat larut dalam medium uji pelepasan

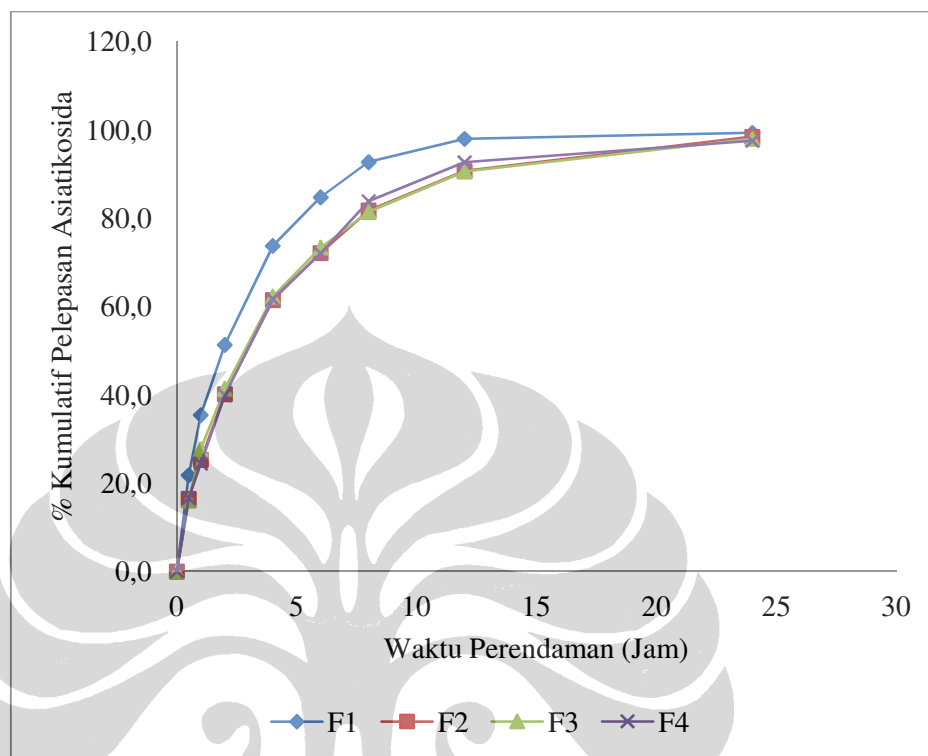
sehingga tercipta kondisi *sink*. Asiatikosida memiliki kelarutan yang sangat kecil dalam air sehingga medium akan menjadi cepat jenuh dan mengganggu proses disolusi asiatikosida selanjutnya. Selain itu, jika hanya menggunakan dapar diperlukan jumlah yang sangat banyak dan hal ini akan menjadi masalah pada analisa kadar karena kadar yang terlarut sangat kecil.

Tabel 4.10. Persen kumulatif pelepasan asiatikosida dari keempat formula film dalam medium dapar fosfat salin pH 7,4 – metanol (9:1)

Waktu Perendaman (Jam)	% Kumulatif Pelepasan Asiatikosida							
	F1		F2		F3		F4	
0	0,0	± 0,0	0,0	± 0,0	0,0	± 0,0	0,0	± 0,0
0,5	21,8	± 3,2	16,4	± 2,4	16,1	± 8,1	16,6	± 2,5
1	35,4	± 2,0	25,3	± 3,8	27,7	± 11,1	24,5	± 3,4
2	51,3	± 7,3	40,2	± 6,4	41,4	± 8,3	39,9	± 4,3
4	73,8	± 2,6	61,5	± 8,8	62,3	± 7,8	61,7	± 3,8
6	84,8	± 2,6	72,1	± 8,7	73,4	± 6,6	72,0	± 2,8
8	92,7	± 0,4	81,8	± 9,2	81,4	± 5,6	83,9	± 5,6
12	98,0	± 0,2	90,7	± 5,0	90,6	± 2,0	92,7	± 3,3
24	99,3	± 0,4	98,5	± 0,4	98,0	± 0,0	97,6	± 1,7

Pelepasan obat dari matriks polimer hidrofilik mengikuti tiga tahap yaitu tahap hidrasi berupa penetrasi medium disolusi ke dalam matriks film, tahap pengembangan matriks yang biasanya diikuti oleh disolusi atau erosi, dan tahap transport obat dari dalam matriks ke medium disolusi (Shoaib, Tazeen, Merchant, & Yousuf, 2006). Uji pelepasan asiatikosida secara *in vitro* menunjukkan adanya pelepasan asiatikosida yang tinggi pada awal pengujian (*burst release*) sehingga ketika diaplikasikan ke daerah luka, asiatikosida dapat langsung memberikan efek yang diharapkan dan diikuti oleh pelepasan yang terkontrol untuk menunjang ketersediaan asiatikosida di daerah luka. *Burst release* terjadi sebagai akibat dari asiatikosida yang secara dominan berada pada permukaan film sehingga dapat berdisolusi dan berdifusi dengan cepat karena tebal lapisan difusinya pendek (Banker & Rhodes, 2002) serta ditunjang oleh proses pengembangan film yang cepat karena adanya asam yang terkandung dalam film. Keempat formula

menunjukkan adanya *burst release* dan pelepasan yang dikontrol pada tahap selanjutnya.



Gambar 4.10. Profil pelepasan asiaticosida dari sediaan keempat formula film dalam medium dapar fosfat salin pH 7,4 – metanol (9:1)

Kitosan merupakan polimer yang sensitif terhadap asam. Adanya asam yang terkandung dalam film menyebabkan film kitosan mengembang dengan cepat sehingga pelepasan obat menjadi cepat pada awal perendaman. Seiring dengan waktu, daya mengembang film kitosan menurun seperti yang ditunjukkan dan dijelaskan pada uji daya mengembang. Penurunan daya mengembang ini diikuti oleh penurunan laju pelepasan asiaticosida dari film sehingga terlihat jumlah asiaticosida yang dilepaskan makin lama makin menurun yang terlihat dari kemiringan kurva pelepasan yang semakin landai.

Kinetika pelepasan asiaticosida dari sediaan film dapat dianalisa dengan membuat kurva orde nol, orde satu, Higuchi, dan Korsmeyer-Peppas kemudian dihitung parameter kinetika pelepasannya. Pelepasan obat yang mengikuti

kinetika orde nol memiliki kecepatan pelepasan yang konstan dari waktu ke waktu tanpa terpengaruh oleh konsentrasi obat dalam sediaan. Pelepasan obat yang mengikuti kinetika orde satu menandakan bahwa pelepasan obat dari dalam sediaan bergantung pada konsentrasi obat dalam sediaan. Kinetika Higuchi menjelaskan profil pelepasan obat yang tergantung oleh waktu. Persamaan Korsmeyer-Peppas digunakan untuk menentukan mekanisme transport obat berdasarkan difusi Fickian atau tidak (Siepmann & Peppas, 2001).

Dari profil pelepasan asiatikosida sudah dapat diramalkan bahwa pelepasan asiatikosida dari sediaan film mengalami perubahan dari waktu ke waktu yang ditandai dengan bentuk kurva yang melengkung (tidak lurus) sehingga pelepasan asiatikosida dari sediaan film tidak mengikuti orde nol. Nilai linieritas (r^2) dari kurva orde nol juga menunjukkan nilai yang tidak linier. Pelepasan obat yang mengikuti kinetika orde nol biasanya dicapai untuk bentuk sediaan reservoir di mana tebal lapisan difusi konstan sepanjang waktu atau oleh sediaan atau obat yang mengalami proses disolusi yang sangat lambat dengan jumlah obat yang terkandung dalam sediaan jauh lebih besar daripada kelarutan obatnya sehingga pelepasan yang konstan dapat dicapai (Banker & Rhodes, 2002).

Persamaan Higuchi memberikan nilai linieritas yang lebih baik daripada persamaan orde nol seperti yang tercantum dalam tabel 4.11. Namun, nilai ini juga belum menunjukkan linieritas yang sempurna. Persamaan Higuchi mengekspresikan pelepasan obat dari sistem matriks planar yang hidrofob dengan mekanisme pelepasan obat yang berlangsung secara difusi Fickian (Wen, Nokhodchi & Rajabi-Siahboomi, 2010), sedangkan sediaan film kitosan dalam penelitian ini merupakan matriks hidrofilik yang dapat mengembang dalam medium dapar fosfat salin pH 7,4, terlebih lagi ditunjang oleh adanya asam yang tersisa dalam film membuat film menjadi lebih mengembang. Model matematika untuk menjelaskan pelepasan dari sediaan ini menjadi lebih kompleks. Persamaan Korsmeyer-Peppas merupakan model matematika yang sederhana dan sudah banyak digunakan untuk menjelaskan profil pelepasan obat dari matriks.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^n \text{ untuk } \frac{M_t}{M_\infty} < 0,6 \quad (4.1.)$$

M_t/M_∞ adalah fraksi obat yang terlepas, k adalah konstanta laju difusi, t adalah waktu pelepasan, dan n adalah eksponen pelepasan yang mengindikasikan mekanisme pelepasan obat. Persamaan Korsmeyer-Peppas diperoleh dengan membuat kurva antara \ln fraksi obat yang terlepas terhadap \ln waktu dari data pelepasan obat di bawah 60% (Wen, Nokhodchi & Rajabi-Siahboomi, 2010). Dari persamaan ini terlihat linieritas yang diperoleh lebih baik daripada persamaan Higuchi dengan nilai n antara 0,5 dan 1,0 yang mengindikasikan bahwa mekanisme pelepasan asiaticosida berlangsung secara anomali, tidak berlangsung secara difusi Fickian yang terjadi pada model matriks Higuchi. Persamaan Korsmeyer-Peppas merupakan pengembangan dari persamaan Higuchi. Untuk sistem matriks planar, apabila nilai n sama dengan 0,5 maka persamaannya menjadi persamaan Higuchi di mana obat lepas secara difusi Fickian. Apabila nilai n sama dengan 1, maka persamaannya menjadi sama dengan persamaan orde nol di mana obat lepas berdasarkan *Case II transport* (Wen, Nokhodchi & Rajabi-Siahboomi, 2010; Colombo *et al.*, 2000).

Tabel 4.11. Analisis kinetika pelepasan asiaticosida dari keempat formula film

Model Pelepasan Obat	F1	F2	F3	F4	
Higuchi	r^2	0,9921 ± 0,0011	0,9919 ± 0,0001	0,9857 ± 0,0137	0,9897 ± 0,0047
	k_H (Jam ^{-1/2})	0,3588 ± 0,0069	0,3077 ± 0,0392	0,3122 ± 0,0190	0,3080 ± 0,0112
	r^2	0,9938 ± 0,0060	0,9996 ± 0,0001	0,9881 ± 0,0156	0,9952 ± 0,0015
Korsmeyer-Peppas	N	0,6188 ± 0,0039	0,6444 ± 0,0102	0,7224 ± 0,2314	0,6337 ± 0,0294
	k_{KP} (Jam ⁻ⁿ)	0,3408 ± 0,0529	0,2554 ± 0,0389	0,2631 ± 0,0977	0,2529 ± 0,0338

Dinamika proses pengembangan dalam matriks polimer akan sangat mempengaruhi proses pelepasan obat. Matriks polimer kitosan dan kitosan-tripolifosfat mampu mengembang dengan cukup cepat pada awal perendaman sehingga berefek terhadap pelepasan obat yang juga terjadi dengan cukup cepat.

Tetapi seiring dengan berjalannya waktu, terjadi penurunan daya mengembang kitosan seperti yang sudah dijelaskan pada bagian uji daya mengembang, yang juga dapat berefek terhadap melambatnya pelepasan obat. Selain terjadi proses pengembangan, juga terjadi proses erosi yang terlihat dari medium pelepasan yang semakin keruh dengan tingkat kekeruhan yang paling tinggi terlihat pada medium pelepasan F1, disusul oleh F2, F3, dan F4 sebagaimana terlihat pada Lampiran 25. Semakin banyak penyambung silang yang ditambahkan ke dalam matriks kitosan, daya erosinya menjadi semakin rendah. Adanya proses pengembangan, erosi, dan difusi, membuat mekanisme pelepasan asiatikosida dari dalam film menjadi semakin kompleks dan sulit untuk meramalkan mekanisme mana yang paling berperan dalam mengontrol pelepasan asiatikosida.

Dari nilai k (laju pelepasan asiatikosida) persamaan Korsmeyer-Peppas terlihat bahwa laju pelepasan asiatikosida tertinggi diberikan oleh F1. Sediaan film F1 tidak mengalami sambung silang sehingga matriks yang terbentuk menjadi lebih longgar. Meskipun daya mengembangnya tidak sebesar F3, tetapi karena ditunjang oleh sistem matriks yang lebih longgar dan erosi yang lebih cepat, maka pelepasan asiatikosida berlangsung lebih cepat daripada film yang disambung silang (F2, F3, dan F4). Perbedaan derajat sambung silang antara film F2, F3, dan F4 tidak memberikan perbedaan yang nyata dalam laju pelepasan asiatikosida. Hal ini cenderung disebabkan oleh posisi asiatikosida dalam film yang berada di lapisan bawah sehingga tebal lapisan difusi yang dilalui obat menjadi pendek dan matriks yang terbentuk tidak dapat berfungsi secara maksimal. Namun, apabila dilihat nilai k antara F2, F3, dan F4, maka nilai tertinggi diberikan oleh F3. Hal ini sesuai dengan karakter F3 yang daya mengembangnya paling tinggi. Dari pembahasan ini dapat disimpulkan bahwa pelepasan asiatikosida dari sediaan film keempat formula berlangsung secara anomali yang dipengaruhi oleh kerapatan dan daya mengembang film yang akan berefek pada kemampuan difusi obat dan erosi matriks. Dengan kata lain kinetika pelepasan asiatikosida ditentukan oleh difusi dan erosi.

Adanya penahanan pelepasan obat pada film F2, F3, dan F4 memang diharapkan, supaya efek terapi yang diberikan oleh sediaan ini lebih panjang sehingga dapat meminimalisir frekwensi penggantian pembalut luka. Namun,

Universitas Indonesia

pelepasan obat pada awal penggunaan pembalut juga harus cukup cepat untuk mencapai kadar terapeutik obat di area luka sehingga bisa berefek dengan segera. Hal ini dapat dicapai dengan penggunaan film sambung silang kitosan-tripolifosfat.

4.6. Kadar Asiatikosida dalam Film

Kadar aktual asiatikosida dalam film dihitung dari kadar sisa dalam film setelah uji pelepasan diakumulasikan dengan kadar yang terlepas selama uji pelepasan sehingga data yang diperoleh dapat langsung digunakan untuk menghitung persen kumulatif pelepasan asiatikosida dari film yang sama. Hal ini dilakukan untuk mengantisipasi adanya variasi kadar asiatikosida dalam film yang dibuat.

Tabel 4.12. Kadar aktual asiatikosida dalam keempat formula film

Formula	Berat asiatikosida dalam film (mg)	% Perolehan kembali
F1	73,38 ± 5,94	97,84 ± 3,96
F2	78,09 ± 2,41	104,12 ± 1,60
F3	73,50 ± 0,61	98,00 ± 0,40
F4	72,64 ± 2,43	96,86 ± 1,62

4.7. Aktivitas Penyembuhan Luka Film Secara *In Vivo*

Sampel film yang diujikan pada uji aktivitas penyembuhan luka adalah film F4. Formula ini dianggap sebagai formula yang paling sesuai dengan karakteristik yang diharapkan, yaitu antara lain memiliki kekuatan mekanik paling baik sehingga mudah dalam penanganan pada saat pemakaian (tidak gampang sobek). Dalam keadaan lembab pun film F4 memiliki kekuatan mekanik yang relatif lebih baik dibandingkan formula yang lain. Kemudian, formula ini paling mampu menahan pelepasan obat meskipun tidak terlalu signifikan perbedaannya dengan formula lain yang juga sama-sama disambung silang.

Apabila dilihat dari laju pelepasannya secara *in vitro*, asiatikosida diperkirakan akan habis kurang dari 48 jam. Namun secara *in vivo*, kemungkinan

pelepasannya akan lebih lama tergantung pada kondisi luka dan jumlah eksudat yang berpenetrasi dan melarutkan asiatikosida serta kondisi enzimatis yang dapat mempengaruhi biodegradabilitas film kitosan-tripolifosfat. Oleh karena itu, dilakukan pengujian secara *in vivo* untuk melihat efek langsung sediaan film kitosan-tripolifosfat yang sudah dibuat dengan konsentrasi asiatikosida dalam film sekitar $2,01 \text{ mg/cm}^2$. Mengacu pada hasil uji *in vivo* aktivitas penyembuhan luka larutan asiatikosida terhadap luka mekanik derajat tiga pada marmot yang dilakukan oleh Sukhla *et al.* (1999), maka dosis efektif asiatikosida adalah $20 \mu\text{l}$ larutan asiatikosida 0,2% per area luka diameter 8 mm sehari dua kali. Kadar yang tersedia per cm^2 film sama dengan 23,56 kali dosis sekali pakai asiatikosida sehingga dapat digunakan hingga 12 hari penggunaan.

Uji aktivitas penyembuhan luka film F4 dibandingkan dengan blanko film F4 yang tidak mengandung asiatikosida untuk mengoreksi efek dari filmnya. Kontrol positif yang digunakan adalah salep Madecassol 1% ekstrak pegagan yang mengandung asiatikosida 40%, asam asiatikat 30%, dan asam madekasat 30%. Pengujian juga dibandingkan dengan kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan.

Tabel 4.13. Persentase penurunan luas area luka

Hari ke-	% Penurunan Luas Area Luka			
	F4	F4 blanko	KP	KN
3	$45,9 \pm 4,5$	$34,2 \pm 17,2$	$18,3 \pm 12,1$	$43,3 \pm 11,5$
7	$73,5 \pm 7,5$	$44,0 \pm 22,0$	$74,5 \pm 20,0$	$83,8 \pm 9,6$

Keterangan: F4 = Film F4 yang mengandung asiatikosida; F4 blanko = Film F4 yang tidak mengandung asiatikosida; KP = Kontrol positif; KN = Kontrol Negatif

Hasilnya menunjukkan persen penurunan luas luka hari ke-3 yang paling besar adalah sampel film F4 yang mengandung asiatikosida yang berbeda secara signifikan dengan kontrol positif ($p < 0,05$) dan tidak berbeda secara signifikan dengan film F4 blanko (tanpa asiatikosida) dan dengan kontrol negatif ($p > 0,05$). Sedangkan pada hari ke-7, persen penurunan luas luka yang paling besar adalah kontrol negatif. Namun, hasilnya tidak berbeda secara signifikan dengan sampel

film F4 yang mengandung asiatikosida dan kontrol positif ($p > 0,05$) dan berbeda secara signifikan dengan film F4 tanpa asiatikosida ($p < 0,05$).

Film F4 yang mengandung asiatikosida tidak memberikan efek yang lebih baik daripada kontrol negatif. Hal ini dikarenakan jenis luka yang diujikan pada penelitian ini termasuk luka yang mudah sembuh yang pada dasarnya tidak perlu diberikan obat apa pun. Hal yang sama juga terlihat pada kontrol positif, di mana pada hari ke tiga persen penurunan lukanya paling kecil dan berbeda secara signifikan dengan kelompok yang lain ($p < 0,05$) dan pada hari ke tujuh perkembangan lukanya tidak berbeda secara signifikan baik dengan kontrol negatif maupun sediaan yang diujikan ($p > 0,05$).

Hampir semua luka dapat sembuh tanpa kesulitan. Namun, terkadang terjadi masalah selama proses penyembuhan luka seperti infeksi, produksi eksudat yang berlebihan, serta adanya benda asing (debris) yang dapat menyebabkan komplikasi. Selain itu, kondisi tubuh seperti penyakit, konsumsi obat, atau kekurangan nutrisi dapat menyebabkan proses penyembuhan luka berlangsung lambat (Boateng *et al.*, 2007). Dalam hal inilah pembalut lebih diperlukan.

Selain karena jenis luka yang diujikan memang termasuk kategori yang cepat sembuh, kegagalan sediaan ini dalam mempercepat proses penyembuhan luka juga disebabkan karena adanya ketidaksesuaian karakter luka dengan sediaan yang diujikan. Hal ini terbukti dengan hasil yang ditunjukkan oleh kelompok film F4 tanpa asiatikosida (blanko) yang menunjukkan proses penyembuhan luka yang paling lambat pada hari ke tujuh. Film yang ditempelkan pada luka menjadi debris begitu pula sisa basis salep di daerah luka pada kontrol positif.

Salah satu konsep dalam proses penyembuhan luka adalah membersihkan luka dari debris sehingga tidak menjadi sumber infeksi dan tidak memperpanjang fase inflamatori yang menghambat penyembuhan luka (Boateng *et al.*, 2007). Film maupun sisa basis salep harus dibersihkan dari daerah luka setelah perannya selesai. Pemberian enzim dapat dilakukan untuk mempercepat degradasi film di daerah luka sehingga tidak menjadi debris, mudah dibersihkan, dan tidak meninggalkan trauma pada proses pelepasannya.

Film kitosan-tripolifosfat memiliki daya adsorpsi yang cukup baik dan bersifat permeabel terhadap uap air yang ditunjukkan oleh nilai WVTR yang

Universitas Indonesia

cukup tinggi. Karakter pembalut seperti ini tidak tepat jika diaplikasikan terhadap luka kering karena akan membuat luka semakin kering. Yang dibutuhkan oleh luka kering adalah kondisi lembab yang dapat diberikan oleh pembalut yang dapat mencegah penguapan lembab dari daerah luka atau disebut *moisture retentive* (Moist, 2009). Film kitosan-tripolifosfat lebih tepat diujikan pada luka basah yang dapat berperan dalam menyerap eksudat yang berlebih dan pelepasan asiatikosida pun dapat terjadi dengan perantaraan eksudat. Selain itu, film kitosan-tripolifosfat tidak dapat menempel pada kulit tikus yang utuh tetapi dapat menempel pada luka. Oleh karena itu, dalam pengaplikasiannya dibutuhkan pembalut sekunder yang dapat membantu menjaga sediaan film agar tetap di tempatnya. Karena sifatnya yang menempel pada luka, pada saat luka mengering sediaan ini cukup sulit dilepaskan sehingga dapat menimbulkan trauma, seperti halnya pada penelitian ini. Setelah film kitosan-tripolifosfat diaplikasikan, pada hari ke dua luka film terlihat mengering, kaku, dan menempel pada daerah luka. Pada hari ke enam, ada film yang lepas dan meninggalkan sedikit trauma pada luka yang ditinggalkan. Hal seperti ini tidak diharapkan dari sebuah pembalut. Namun, apabila diaplikasikan pada luka basah dan kelembabannya tetap dijaga, film ini tidak terlalu adhesif sehingga mudah dilepaskan dan tidak menimbulkan trauma.

Pembalut pada dasarnya lebih dibutuhkan pada jenis luka yang proses penyembuhannya lama sehingga perlu dibantu dengan pembalut untuk mencegah infeksi, untuk menciptakan lingkungan yang sesuai untuk proses penyembuhan luka dan tentunya yang paling utama adalah mempercepat proses penyembuhan luka baik terlibat secara langsung maupun tidak langsung (Boateng *et al.*, 2007). Pemilihan jenis pembalut juga harus disesuaikan dengan tahap penyembuhan luka supaya diperoleh hasil yang optimal.

Bila dibandingkan antara film F4 yang mengandung asiatikosida dan blankonya, maka film yang mengandung asiatikosida memberikan efek penurunan luas luka yang lebih baik dan berbeda secara signifikan ($p < 0,05$). Hal ini, menunjukkan bahwa adanya asiatikosida dalam film memberikan efek pada luka sehingga kecepatan penurunan area lukanya lebih baik.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

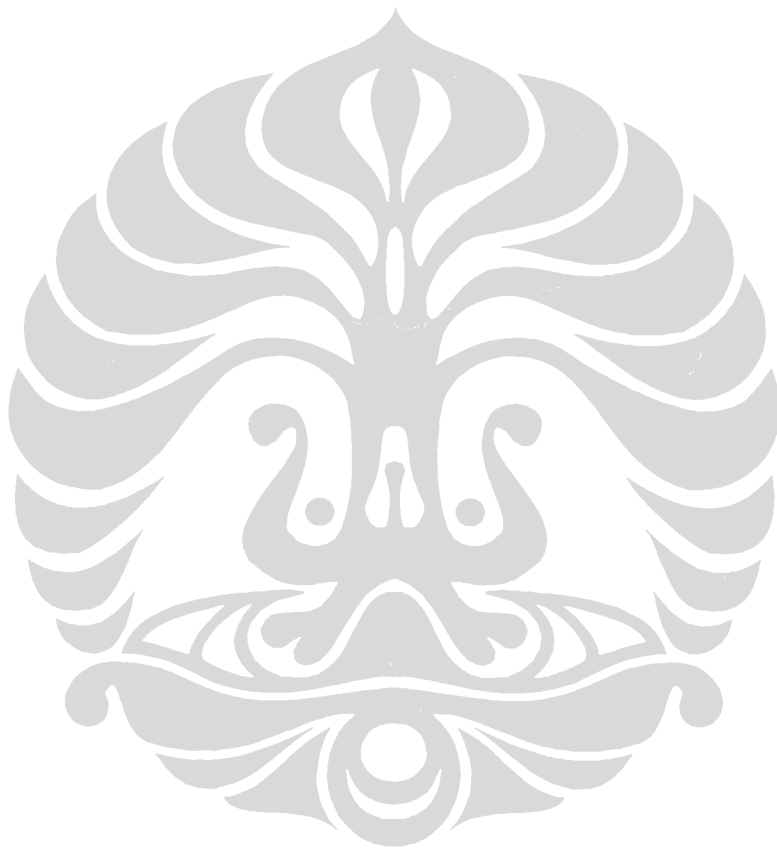
5.1. Kesimpulan

1. Film sambung silang kitosan-tripolifosfat dapat dibentuk dengan homogen pada konsentrasi dan pH optimum masing-masing larutan yaitu larutan kitosan 1% pH 3,5, larutan tripolifosfat 0,1% pH 9,5.
2. Film sambung silang kitosan-tripolifosfat menunjukkan karakteristik yang sesuai untuk pembalut luka jenis adsorben dengan karakteristik terbaik diberikan oleh film dengan kadar penyambung silang 12% b/b kitosan (F4) khususnya dalam memperbaiki sifat mekanik film.
3. Persen kumulatif pelepasan asiatikosida pada jam ke enam dari film F1, F2, F3, dan F4 berturut-turut adalah 84,8%, 72,1%, 73,4%, dan 72,0%. Film sambung silang kitosan-tripolifosfat mampu menahan pelepasan obat tetapi dengan pelepasan di awal yang cukup cepat sehingga dapat berefek segera tetapi panjang dengan kinetika pelepasan dikontrol oleh difusi dan erosi.
4. Film sambung silang kitosan-tripolifosfat belum menunjukkan aktivitas penyembuhan luka yang lebih baik dan tidak berbeda secara bermakna ($p > 0,05$) dibandingkan kontrol pada jenis luka terbuka mekanik derajat tiga yang kering.

5.2. Saran

1. Dicari metode pembuatan film yang lebih baik dan efisien sehingga dihasilkan film yang memiliki kadar asiatikosida yang lebih homogen, reproduibel, dan lebih stabil.
2. Dilakukan pengujian aktivitas penyembuhan luka film kitosan-tripolifosfat pada jenis luka basah dengan eksudat ringan hingga moderat.
3. Dilakukan uji stabilitas asiatikosida dan stabilitas film sambung silang kitosan-tripolifosfat

4. Dilakukan uji difusi untuk mengetahui profil penetrasi asiatikosida dari sediaan film terhadap kulit.



DAFTAR ACUAN

- Adlia, A., Suciati, T., Iwo, M.I., & Darijanto, S.T. (2011, June). *Chitosan microparticle based scaffolds for wound healing acceleration*. Paper presented at the 5th AASP General Annual Meeting.
- Banker, G.S. & Rhodes, C.T. (2002). *Modern Pharmaceutics Fourth Edition, Revised and Expanded*. New York: Marcel Dekker.
- Beanes, S.R., Dang, C., Chia Soo, & Kang Ting (2003). *Expert Reviews in Molecular Medicine* (Vol. 5). December 17, 2010.
http://journals.cambridge.org/fulltext_content/ERM/ERM5_08/S1462399403005817sup002.htm
- Berger, J., Reist, M., Mayer, J.M., Felt, O., Peppas, N.A., & Gurny, R. (2004). Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical application. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 57, 19-34.
- Bettini, R., Romani, A.A., Morganti, M.M., & Borghetti, A.F. (2008). Physicochemical and cell adhesion properties of chitosan films prepared from sugar and phosphate-containing solutions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 68(1), 74-78.
- Bhumkar, D.R. & Pokharkar V.B. (2006). Studies on effect of pH on cross-linking of chitosan with sodium tripolyphosphate: A technical note. *AAPS PharmSciTech*, 7(2) article 50.
- Boateng, J.S., Matthews, K.H., Stevens, H.N.E., & Eccleston, G.M. (2008). Wound healing dressing and drug delivery system: A review. *J. Pharm. Sci.*, 97(8), 2892-2917.
- Burnsurgery.org. (2009). *Moist Healing and Wound Care Including Burns (Advantages and Current Approaches)*. June 7, 2012.
http://www.burnsurgery.org/Betaweb/Modules/moisthealing/part_2bc.htm
- Cahyono, J.B.S.B. (2007). Manajemen ulkus kaki diabetik. *DEXA MEDIA*, 3(20), 103-108.
- Chemical Book. (2010). December 15, 2010.
http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB6270667.htm and
http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB7109339.htm
- Colombo, P., Santi, P., Bettini, R., Brazel, C.S., & Peppas, N.A. (2000). Drug release from swelling-controlled systems. In D.L. Wise (Ed.). *Handbook of*

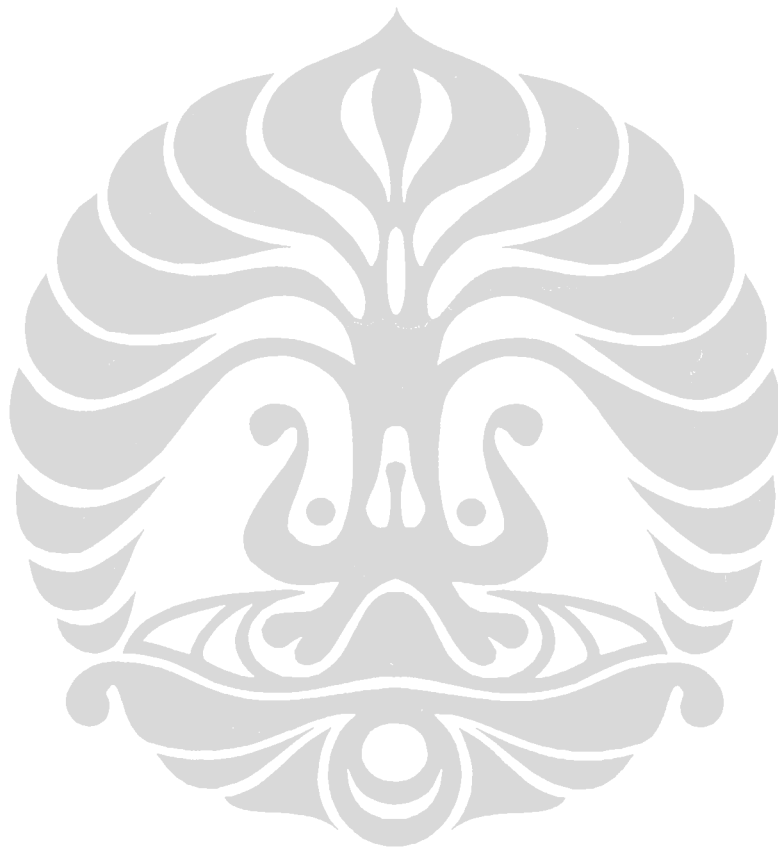
Pharmaceutical Controlled Released Technology (pp. 183-205). New York: Marcel Dekker.

- Dash, S., Murthy, P.N., Nath, L., & Chowdhury, P. (2010). Kinetic modeling on drug release from controlled. *Acta Pol. Pharm.*, 67(3), 217-223.
- Datta, H.S., Mitra, S.K., & Patwardhan, B. (2009). Wound healing activity of topical application forms based on ayurveda. eCAM. September 21, 2011. <http://www.iaim.edu.in/pdf/eCAM-Hema-WH-09.pdf>
- Dhawade, P.P. & Jagtap, R.N. (2012). Characterization of the glass transition temperature of chitosan and its oligomers by temperature modulated differential scanning calorimetry. *Adv. Appl. Sci. Res.*, 3(3), 1372-1382.
- Dutta, P.K., Dutta, J., & Tripathi, V.S. (2004). Chitin and chitosan: Chemistry, properties, and applications. *J. Sci. Ind. Res.*, 63, 20-31.
- Eroğlu, H. & Öner, L. (2006). *Chitosan in steroid delivery: Effect of molecular weight on in vitro release from film formulation*. Turkey.
- Gierszewska-Drużyńska, M. & Ostrowska-Czubenko, J. (2010). The effect of ionic crosslinking on thermal properties of hydrogel chitosan membranes. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives*, 15, 25-32.
- Harsunu, B.T. (2008). Pengaruh Konsentrasi Plasticizer Gliserol dan Komposisi Khitosan dalam Zat Pelarut terhadap Sifat Fisik Edible Film dari Kitosan. *Skripsi Sarjana Teknik*. Departemen Metalurgi dan Material Fakultas Teknik Universitas Indonesia, Depok.
- Illum, L. (1998). Review chitosan and its use as a pharmaceutical excipient. *Pharm. Res.*, 15(9), 1326-1329.
- Jacques, Y., Nguyen Xuan, T., Ionescu, E., Ravelli, G.P., Buri, P., Baehni, P., & Gurny, R. (1997). In vivo evaluation of hydrophilic and hydrophobic mucoadhesive semi-solid formulations containing sucralfate and lidocaine for intraoral use. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 43, 59-63.
- Kee Woei NG, Achuth, H.N., Moochhala, S., Thiam, C.L., & Hutmacher, D.W. (2007). In vivo evaluation of an ultra-thin polycaprolactone film as a wound dressing. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, Vol. 18, No. 7, pp. 925–938.
- Khan, T.A., Peh, K.K., & Ch'ng, H.S. (2000). Mechanical, bioadhesive strength and biological evaluations of chitosan films for wound dressing. *J. Pharm. Pharm. Sci.*, 3(3), 303-311.

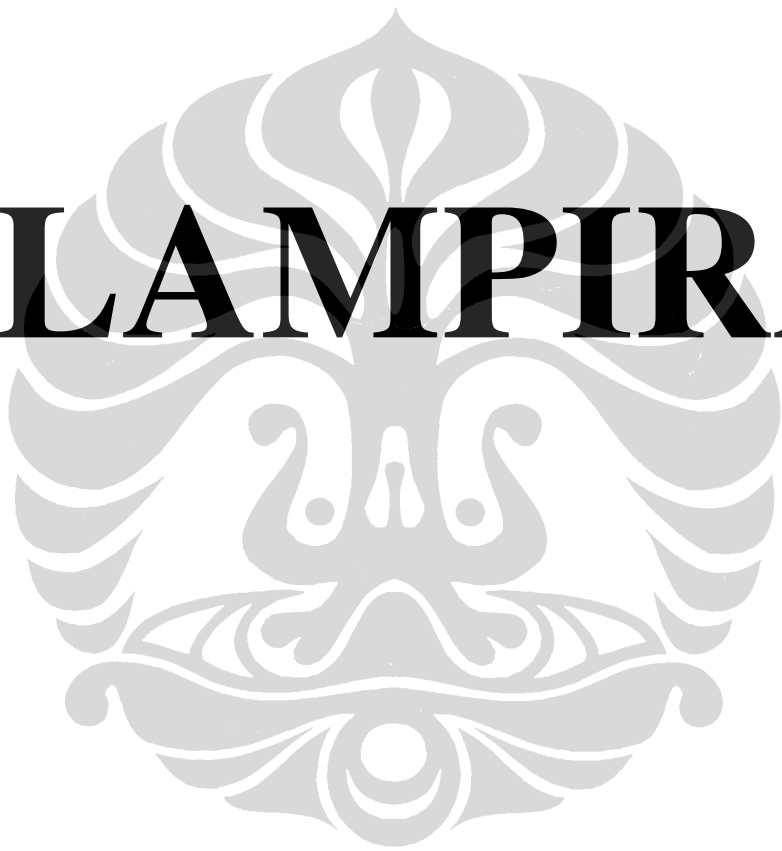
- Krogars, K. (2003). Aqueous-Based Amylose-Rich Maize Starch Solution and Dispersion: A Study on Free Films and Coatings. *Academic dissertation*. University of Helsinki. April, 2010.
ethesis.helsinki.fi/julkaisut/mat/farma/vk/krogars/aqueousb.pdf
- Kumar, M., Prabhushankar, G.L., & Sathesh Babu, P.R. (2010). Formulation and in-vitro evaluation of periodontal films containing metronidazole. *Int. J. Pharm. Tech. Res.*, 2(4), 2188-2193.
- Lam, T.D., Hoang, V.D., Lien, L.N., Thinh, N.N., & Dien P.G. (2006). Synthesis and characterization of chitosan nanoparticles used as drug carrier. *J. Chem.*, 44(1), 105-109.
- Lim, C.K. & Halim, A.S. (2010). Biomedical-grade chitosan in wound management and its biocompatibility in vitro. *Biopolymers*. pp. 19-33.
- Lloyd, L.L., Kennedy, J.F., Methacanon, P., Paterson, M., & Knill, C.J. (1998). Carbohydrate polymers as wound management aids. *Carbohydr. Polym.*, 37, 315-322.
- Mehdinezhad, B. *et al.* (2011). Comparison of in-vivo wound healing activity of *Verbascum thapsus* flower extract with zinc oxide on experimental wound model in rabbits. *Adv. Environ. Biol.*, 5(7): 1501-1509.
- Merck. (2001). *The Merck Index* (13th ed., vol. 2).
- Noel, S.P., Courtney, H., Bumgardner, J.D., & Haggard, W.O. (2008). Chitosan films a potential local drug delivery system for antibiotics. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 466:1377-1382.
- Osterwald, H.P. (1984). Properties of film-formers and their use in aqueous systems. *Pharm. Res.*, 2(1), 14-18.
- Pati, F., Datta, P., Chatterjee, J., Dhara, S., & Adhikari, B. (2010). Development of chitosan-tripolyphosphate fiber for biomedical application. *Proceedings of the 2010 IEEE Students' Technology Symposium*.
- Rathke, T.D. & Hudson, S.M. (1994). Review of chitin and chitosan as fiber and film formers. *Polym. Rev.*, 34: 3, 375-437.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., & Quinn, M.E. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipient* (ed. 6). London: Pharmaceutical Press.
- Sezer, A.D., Hatipoglu, F., Cevher, E., Ogurtan, Z., Levent Bas, A., & Akbuga, J. (2007). Chitosan film containing fucoidan as a wound dressing for dermal burn healing: Preparation and in vitro/in vivo evaluation. *AAPS PharmSciTech*, 8(2), artikel 39.

- Shoaib, M.H., Tazeen, J., Merchant, H.A., & Yousuf, R.I. (2006). Evaluation of drug release kinetics from ibuprofen matrix tablets using HPMC. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 19(2), 119-124.
- Shu, X.Z. & Zhu, K.J. (2001). Chitosan/gelatin microspheres prepared by modified emulsification and ionotropic gelation. *J. Microencapsul.*, 18(2), 237-245.
- Shukla, A., Rasik, A.M., Jain, G.K., Shankar, R., Kulshrestha, D.K., & Dhawan, B.N. (1999). In vitro and in vivo wound healing activity of asiaticoside isolated from centella asiatica. *J. Ethnopharm.*, 65(1), 1-11.
- Siepmann, J. & Peppas, N.A. (2001). Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Advanced Drug Delivery Reviews*, 48, 139–157.
- Sikareepaisan, P., Ruktanonchai, U., & Supaphol, P. (2011). Preparation and characterization of asiaticoside-loaded alginate films and their potential for use as effectual wound dressings. *Carbohydr. Polym.*, 83, 1457–1469.
- Sikareepaisan, P., Suksamrarn, A., & Supaphol, P. (2008). Electrospun gelatin fiber mats containing a herbal – *Centella asiatica* – extract and release characteristic of asiaticoside. *Nanotechnology*, 19, 1–10.
- Smeltzer, S.C. & Bare, B.G. (Ed.). (2001). *Buku Ajar Keperawatan Medikal-Bedah Brunner & Suddarth* (ed. ke-8, vol. 3). (Andry Hartono *et al.*, Penerjemah). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Suwantong, O., Ruktanonchai, U., & Supaphol, P. (2008). Electrospun cellulosa acetate fiber mats containing asiaticoside or centella asiatica crude extract and the release characteristics of asiaticoside. *Polymer*, 49, 4239-4247.
- The Su Moe, Tin Aye Khaing, Tha Zin Han, & Hla Myat Mon. (2008). Effects of chitosan films on wound healing and evaluation of their properties. *GMSARN International Conference on Sustainable Development: Issues and Prospects for the GMS*.
- Tiwary, A.K. & Rana, V. (2010). Cross-linked chitosan films: Effect of cross-linking. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 23(4), 443-448.
- TwFTA.Com. (2010). December 20, 2010.
http://www.twfta.com/cn00156191/showroom_17774.htm
- Varsha, C., Bajpai, S.K., & Navin, C. (2010). Investigation of water vapour permeation and antibacterial properties of nano silver loaded cellulose acetate film. *Int. Food Res. J.*, 17, 623-639.
- Varshosaz, J. & Karimzadeh, S. (2007). Development of cross-linked chitosan films for oral mucosal delivery of lidocaine. *Res. in Pharm. Sci.*, 2, 43-52.

Wen, X., Nokhodchi, A., & Rajabi-Siahboomi, A. (2010). Oral extended release hydrophilic matrices: Formulation and design. In H. Wen & K. Park. (Ed.). *Oral Controlled Released Formulation Design and Drug Delivery: Theory to Practice* (pp. 89-97). New Jersey: John Wiley and Sons.



LAMPIRAN

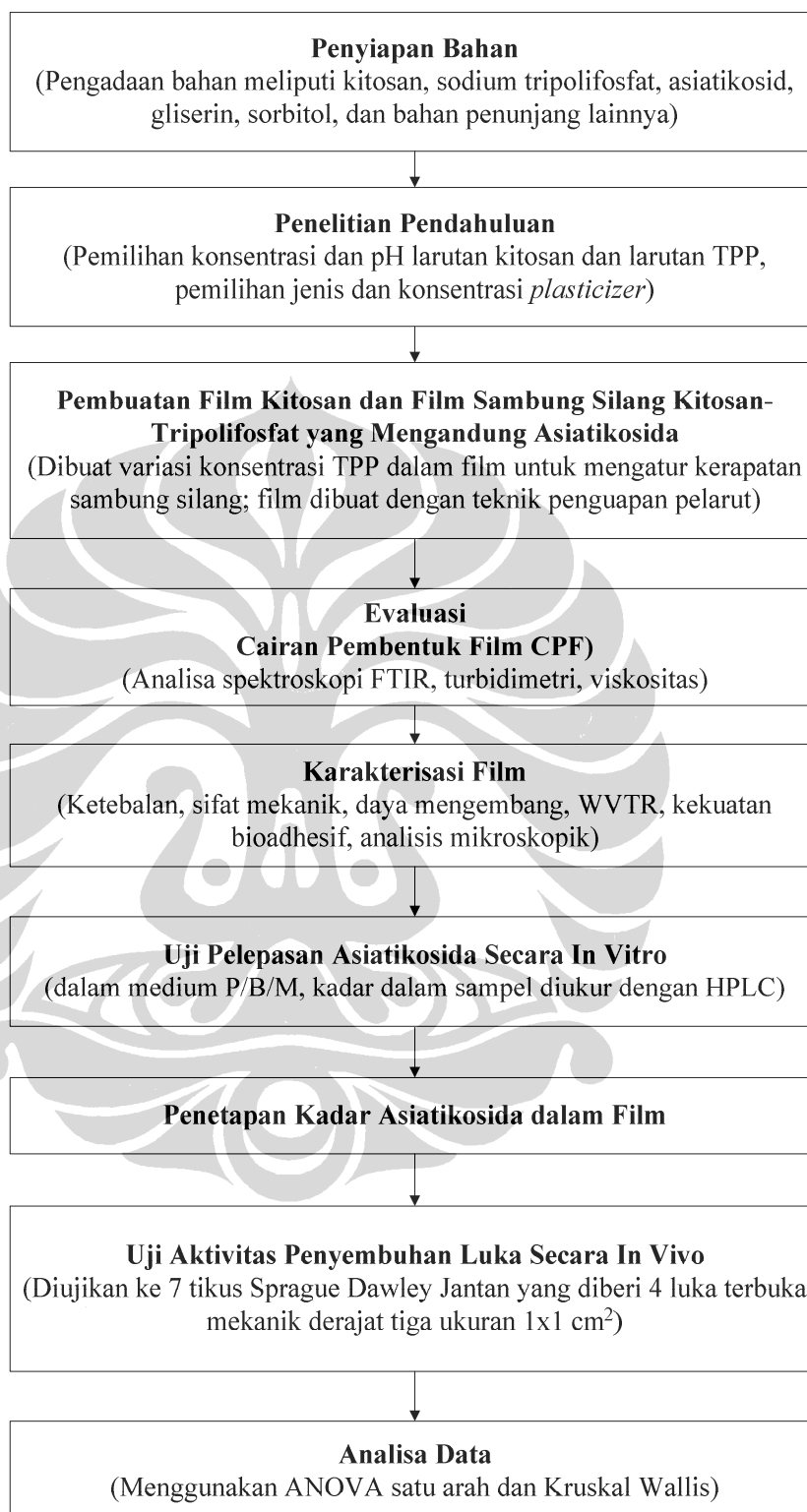


Universitas Indonesia

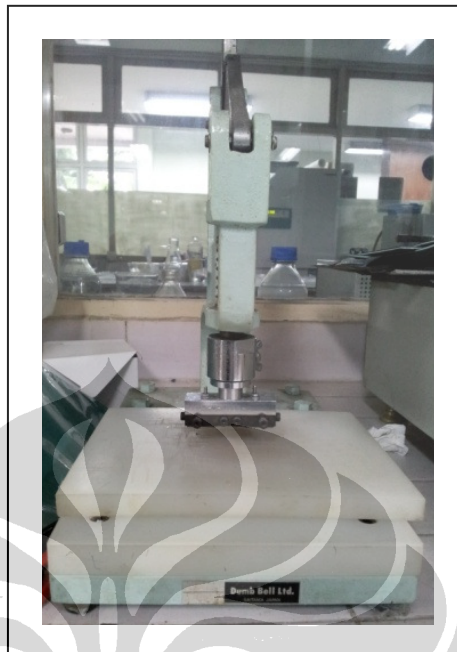


Daftar Lampiran

Lampiran Gambar	1 - 13
Lampiran Tabel	14 - 30
Lampiran Perhitungan	31 - 34
Lampiran Sertifikat	35 - 37

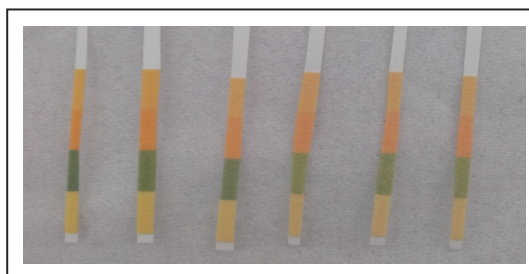
Lampiran 1. Bagan Alur Penelitian

Lampiran 2. Alat Pemotong Sampel Uji Tarik *Dumb Bell* Saitama Jepang dengan standar ASTM-D 1822-1



Lampiran 3. Alat Uji Tarik *Tensile Tester* Stograph R-1 Toyoseiki-Jepang

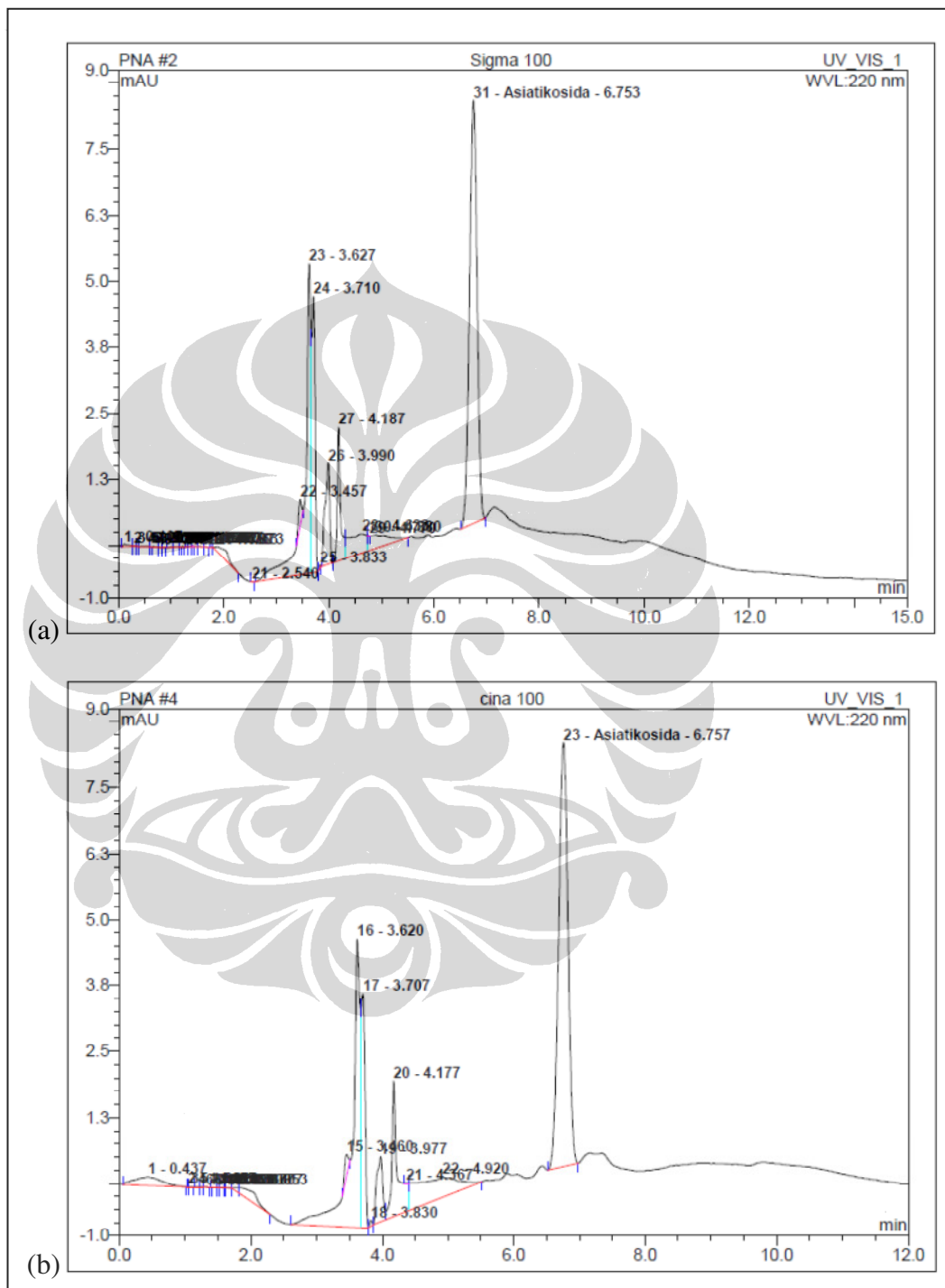


Lampiran 4. Alat *Texture Analyzer* TA-XT₂i**Lampiran 5.** Mikrometer Digital Mitutoyo**Lampiran 6.** Perubahan pH Permukaan Film pada Saat Perendaman

Keterangan: Dari kanan ke kiri, pH permukaan film dari waktu perendaman 1, 2, 5, 10, 20, dan 30 menit

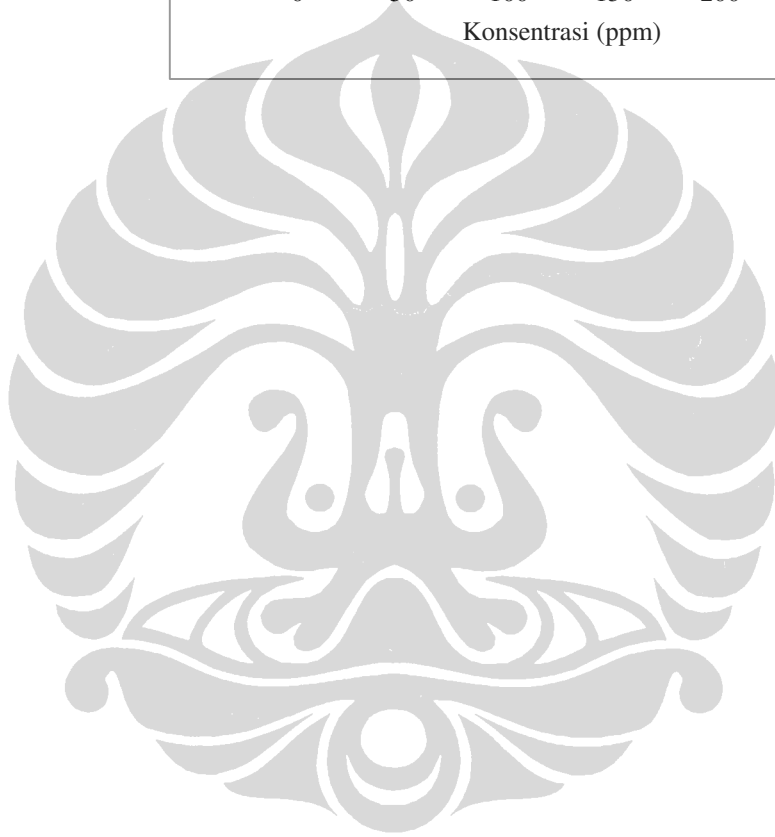
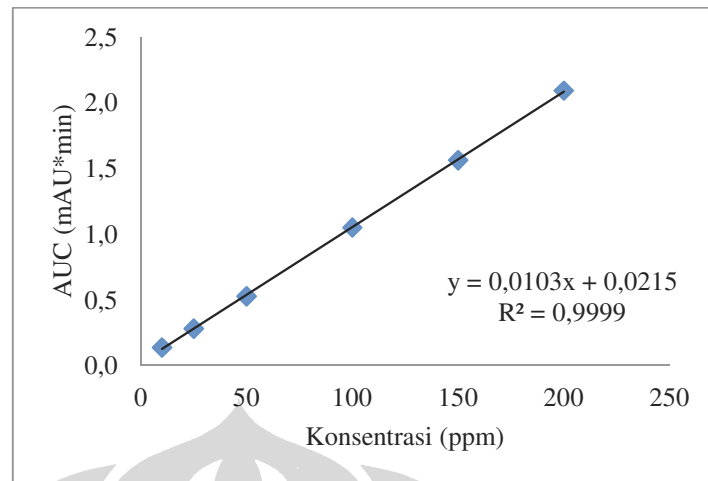
Universitas Indonesia

Lampiran 7. Kromatogram (a) Larutan Asiatikosida Standar 100 ppm dan (b) Larutan Asiatikosida Sampel 100 ppm dalam Medium Uji Pelepasan

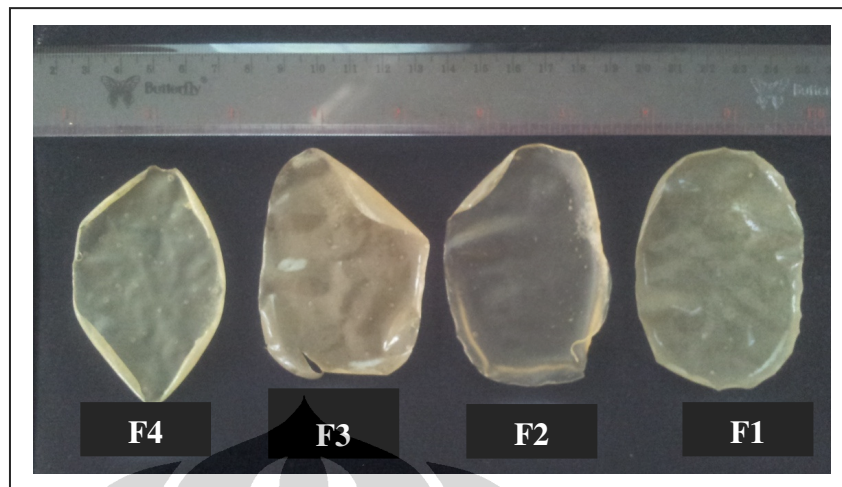


Keterangan: Kondisi: kolom C₁₈ Acclaim[®] dengan panjang kolom 250 x 4,6 mm ukuran partikel 5,0 μm, fase gerak metanol-air (70:30); kecepatan alir 0,7 mL/menit; detektor UV pada panjang gelombang 220 nm; volume penyuntikan 10,0 μL.

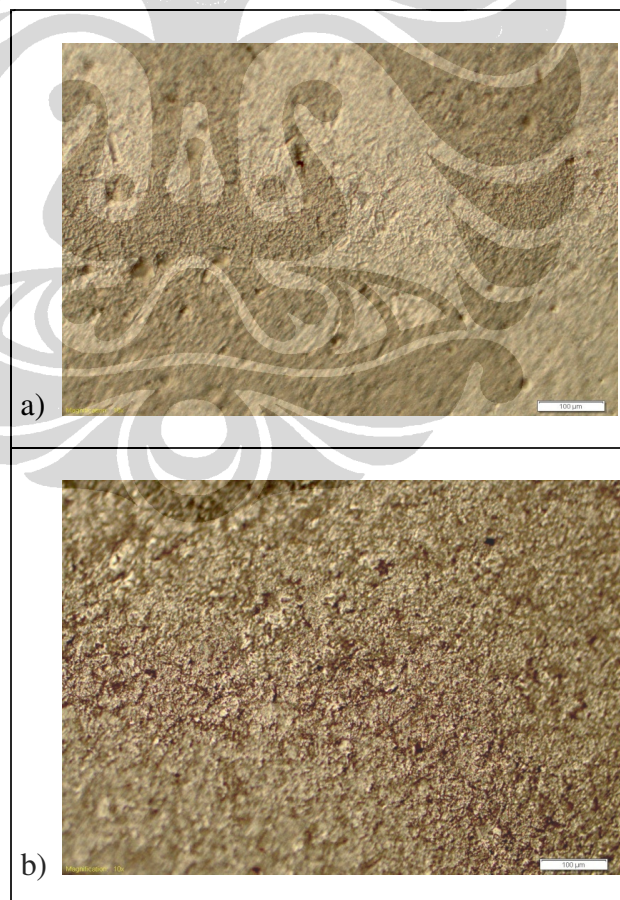
Universitas Indonesia

Lampiran 8. Kurva Kalibrasi Asiatikosida dalam Medium Uji Pelepasan

Lampiran 9. Gambar Keempat Formula Film Setelah Uji Pelepasan

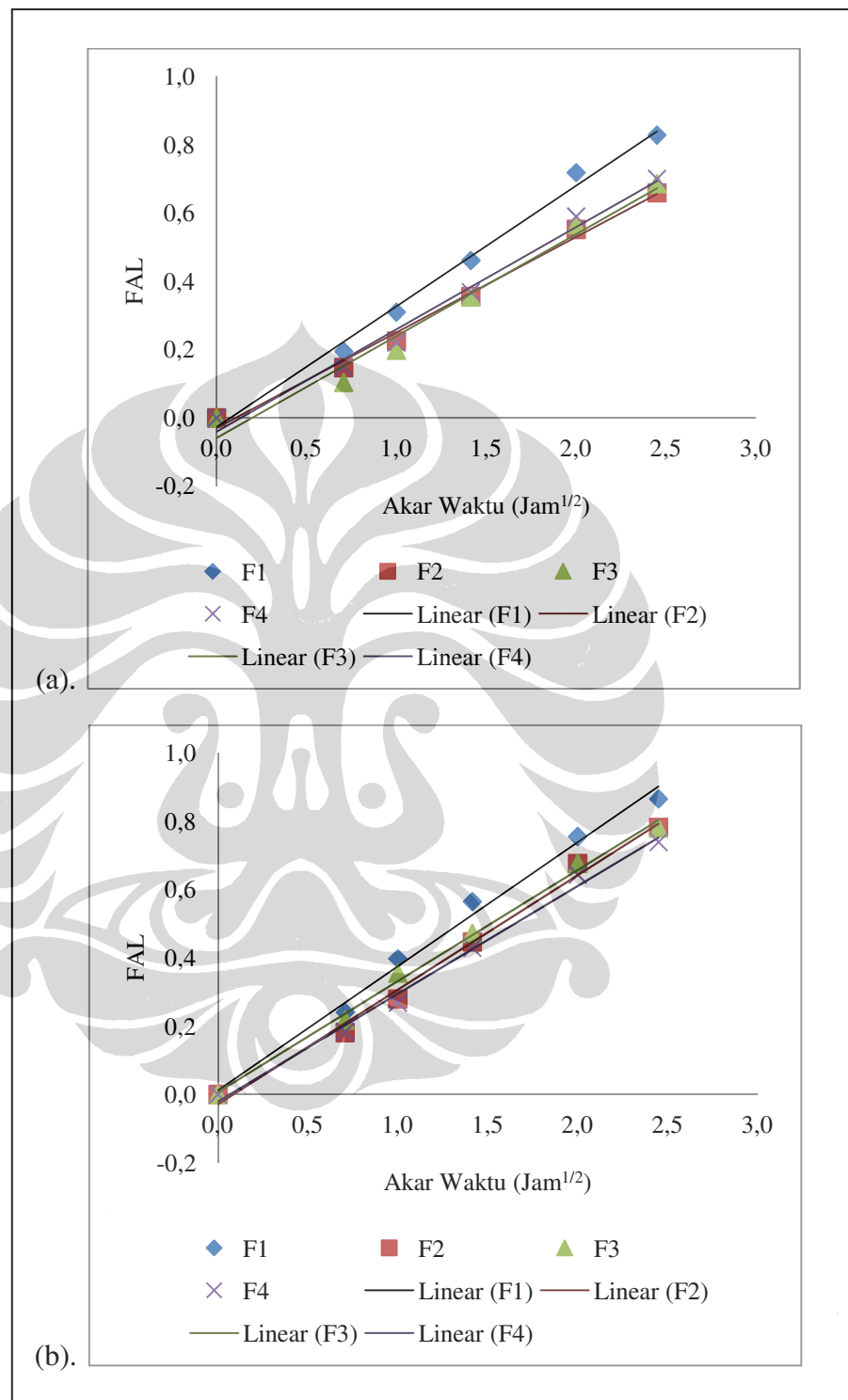


Lampiran 10. Gambar Mikroskopik Permukaan Film: (a) Sebelum dan (b) Sesudah Uji Pelepasan



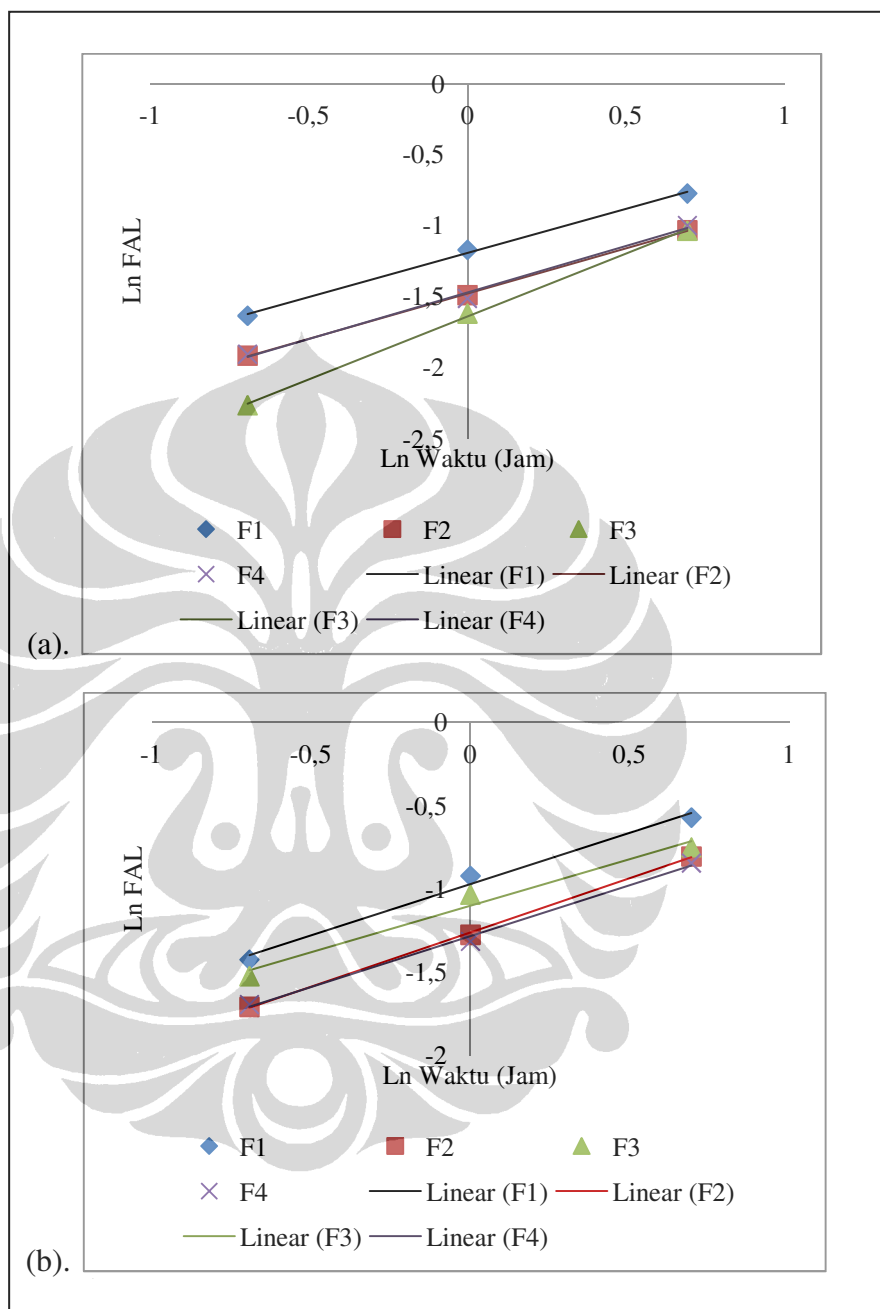
Keterangan: Perbesaran 100 x

Lampiran 11. Kurva Kinetika Pelepasan Asiatikosida Model Higuchi dari Keempat Formula Film

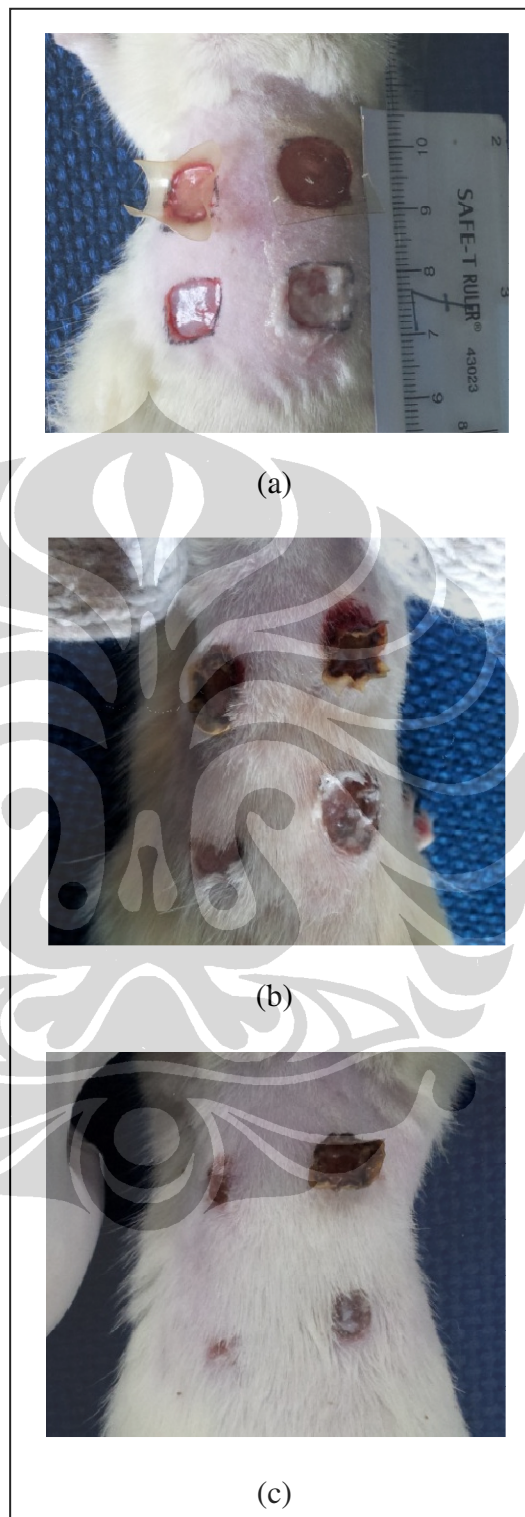


Keterangan: (a). Ulangan ke-1; (b). Ulangan ke-2; FAL = fraksi asiaticosida yang terlepas

Lampiran 12. Kurva Kinetika Pelepasan Asiatikosida Model Korsmeier-Peppas dari Keempat Formula Film



Keterangan: (a). Ulangan ke-1; (b). Ulangan ke-2; Ln FAL = Ln fraksi asiatikosida yang terlepas

Lampiran 13. Foto Luka pada Tikus Hari ke-0, 3, dan 7

Keterangan: (a). Hari ke-0; (b). Hari ke-3; (c). Hari ke-7; luka kiri atas diberi film F4; kanan atas diberi film F4 blanko; kiri bawah kontrol negatif (tanpa perlakuan); kanan bawah kontrol positif (diberi salep Madecassol 1%)

Lampiran 14. Ketebalan Keempat Formula Film

Area	Tebal (μm)											
	F1			F2			F3			F4		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	121	141	119	130	137	119	135	132	158	153	145	167
	118	146	112	128	132	129	141	148	158	149	146	167
	129	156	124	127	149	145	163	136	158	171	133	161
	142	160	118	115	148	166	169	111	158	169	134	167
	114	143	129	132	135	141	143	121	156	172	139	154
2	180	130	127	180	110	108	138	158	155	156	136	157
	124	122	131	149	115	142	122	146	142	138	148	151
	156	123	132	160	112	120	133	157	136	153	145	154
	136	112	144	145	122	161	134	146	142	147	138	162
	165	120	134	149	108	117	136	154	125	149	149	151
3	143	125	143	160	120	103	126	137	140	147	136	163
	156	112	126	200	117	110	105	126	130	152	156	153
	164	117	128	167	138	105	120	137	138	140	168	154
	132	115	119	190	154	96	120	123	147	144	162	146
	142	116	127	170	141	109	121	157	142	124	175	151
4	159	151	121	147	152	108	174	113	140	122	169	148
	133	144	119	129	153	113	158	112	154	135	170	137
	171	175	125	142	154	107	177	119	143	143	168	146
	178	144	124	128	159	110	173	133	146	136	177	155
	151	167	124	137	169	107	159	124	148	137	172	138
5	105	101	154	126	117	163	161	144	149	128	150	148
	109	110	148	142	137	125	138	159	174	140	167	133
	104	118	177	130	121	160	163	165	166	143	157	141
	115	120	186	151	115	149	173	164	136	155	152	148
	99	107	156	127	109	191	175	151	170	138	172	134
6	105	134	160	153	129	109	139	132	164	129	146	162
	115	108	148	141	146	110	159	152	166	131	166	136
	111	122	179	146	147	120	159	142	166	128	140	146
	125	124	185	145	163	123	142	150	157	138	142	147
	107	139	183	166	158	145	141	138	174	139	192	134
Rata-rata	134	130	140	147	136	127	147	140	151	144	155	150
SB	24	19	23	20	18	24	20	16	13	13	16	10

Lampiran 15. Kekuatan Tarik dan Perpanjangan pada Saat Putus Keempat Formula Film dalam Kondisi Kering

Formula	Sampel	Tebal (mm)	Kekuatan Tarik		Perpanjangan Putus	
			Kg	N/cm ²	cm	%
F1	1	0,100	0,128	426,67	1,70	70,00
	2	0,100	0,135	450,00	1,60	60,00
	3	0,140	0,150	357,14	1,60	60,00
	4	0,140	0,155	369,05	1,60	60,00
	5	0,130	0,148	379,49	1,60	60,00
	Rata-rata	0,122	0,143	396,47	1,62	62,00
	SB	0,020	0,011	39,89	0,04	4,47
F2	1	0,130	0,124	317,95	1,80	80,00
	2	0,140	0,233	554,76	1,60	60,00
	3	0,130	0,280	717,95	1,70	70,00
	4	0,130	0,229	587,18	1,80	80,00
	5	0,130	0,180	461,54	1,80	80,00
	Rata-rata	0,132	0,209	527,88	1,74	74,00
	SB	0,004	0,059	149,03	0,09	8,94
F3	1	0,170	0,255	500,00	1,70	70,00
	2	0,150	0,203	451,11	2,10	110,00
	3	0,140	0,188	447,62	2,00	100,00
	4	0,110	0,070	212,12	1,80	80,00
	5	0,130	0,150	384,62	2,00	100,00
	Rata-rata	0,140	0,173	399,09	1,92	92,00
	SB	0,022	0,069	112,26	0,16	16,43
F4	1	0,150	0,410	911,11	1,60	60,00
	2	0,160	0,545	1135,42	1,60	60,00
	3	0,130	0,375	961,54	1,60	60,00
	4	0,170	0,480	941,18	1,60	60,00
	5	0,150	0,335	744,44	1,80	80,00
	Rata-rata	0,152	0,429	938,74	1,64	64,00
	SB	0,015	0,084	139,39	0,09	8,94

Lampiran 16. Kekuatan Tarik dan Perpanjangan pada Saat Putus Film Kitosan Keempat Formula dalam Kondisi Lembab

Formula	Sampel	Tebal (mm)	Kekuatan Tarik		Perpanjangan Putus	
			Kg	N/cm ²	cm	%
F1	1	0,180	0,010	18,52	1,60	60,00
	2	0,150	0,010	22,22	1,60	60,00
	3	0,160	0,010	20,83	1,60	60,00
	Rata-rata	0,163	0,010	20,52	1,60	60,00
	SB	0,015	0,000	1,87	0,00	0,00
F2	1	0,190	0,015	26,32	1,80	80,00
	2	0,160	0,010	20,83	1,50	50,00
	3	0,160	0,013	27,08	1,50	50,00
	Rata-rata	0,170	0,013	24,74	1,60	60,00
	SB	0,017	0,003	3,41	0,17	17,32
F3	1	0,220	0,015	22,73	1,60	60,00
	2	0,190	0,010	17,54	1,80	80,00
	3	0,220	0,013	19,70	1,80	80,00
	Rata-rata	0,210	0,013	19,99	1,73	73,33
	SB	0,017	0,003	2,60	0,12	11,55
F4	1	0,230	0,015	21,74	1,60	60,00
	2	0,200	0,015	25,00	1,60	60,00
	3	0,190	0,020	35,09	1,60	60,00
	Rata-rata	0,207	0,017	27,28	1,60	60,00
	SB	0,021	0,003	6,96	0,00	0,00

Lampiran 17. Kadar Air Keempat Formula Film dalam Kondisi Kering dan Kondisi Lembab

Formula	Sampel	Film Kering			Film Lembab		
		W0	W1	% KA	W0	W1	% KA
F1	1	0,1032	0,0886	14,15	0,2342	0,0788	66,35
	2	0,1168	0,1016	13,01	0,2770	0,0914	67,00
	3	0,1188	0,1015	14,56	0,2592	0,0799	69,17
	Rata-rata			13,91			67,51
	SB			0,80			1,48
F2	1	0,1115	0,0950	14,80	0,3342	0,1166	65,11
	2	0,1120	0,0993	11,34	0,2110	0,0738	65,02
	3	0,1131	0,0999	11,67	0,2178	0,0713	67,26
	4	0,1399	0,1197	14,44			
	Rata-rata			13,06			65,80
SB			1,81			1,27	
F3	1	0,1223	0,1047	14,39	0,2550	0,0971	61,92
	2	0,1003	0,0857	14,56	0,2877	0,1077	62,57
	3	0,1182	0,1003	15,14	0,2786	0,1129	59,48
	4	0,1377	0,1168	15,18			
	Rata-rata			14,82			61,32
SB			0,40			1,63	
F4	1	0,1220	0,1039	14,84	0,2185	0,0847	61,24
	2	0,1130	0,0967	14,42	0,2884	0,1080	62,55
	3	0,1272	0,1072	15,72	0,2589	0,1019	60,64
	Rata-rata			14,99			61,48
SB			0,664			0,98	

Lampiran 18. Daya Mengembang Keempat Formula Film dalam Medium Dapar Fosfat Salin pH 7,4

Waktu Perendaman (menit)	F1													
	1		2		3		4		5		6		% Δw	
	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	Rata-rata	SB
0	74,30	0,00	70,90	0,00	68,00	0,00	70,10	0,00	60,80	0,00	68,80	0,00	0,00	0,00
1	243,70	227,99	202,60	185,75	229,10	236,91	236,60	237,52	199,30	227,80	192,30	179,51	215,91	26,19
2	258,30	247,64	256,00	261,07	242,70	256,91	239,50	241,65	205,80	238,49	244,90	255,96	250,29	9,09
5	255,00	243,20	255,40	260,23	239,90	252,79	246,00	250,93	205,50	237,99	247,40	259,59	250,79	8,85
10	248,80	234,86	250,60	253,46	227,90	235,15	242,90	246,50	203,50	234,70	251,00	264,83	244,92	12,43
30	240,10	223,15	233,80	229,76	218,10	220,74	233,80	233,52	195,10	220,89	244,80	255,81	230,65	13,36
Waktu Perendaman (menit)	F2													
	1		2		3		4		5		6		% Δw	
	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	Rata-rata	SB
0	87,4	0,00	81,10	0,00	69,20	0,00	71,80	0,00	79,30	0,00	85,40	0,00	0,00	0,00
1	270,8	209,84	259,70	220,22	219,90	217,77	227,70	217,13	253,80	220,05	254,80	198,36	213,90	8,50
2	309,4	254,00	305,70	276,94	248,20	258,67	247,60	244,85	278,80	251,58	289,70	239,23	254,21	13,08
5	304,4	248,28	307,00	278,55	240,90	248,12	242,50	237,74	272,60	243,76	298,10	249,06	250,92	14,19
10	297,3	240,16	244,40	201,36	231,70	234,83	228,50	218,25	266,20	235,69	291,20	240,98	228,54	15,66
30	276	215,79	229,30	182,74	222,90	222,11	214,90	199,30	250,40	215,76	272,30	218,85	209,09	15,13

Keterangan: % Δw = persen kenaikan bobot

(Lanjutan)

Waktu Perendaman (menit)	F3													
	1		2		3		4		5		6		% Δw	
	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	Rata-rata	SB
0	76,00	0,00	71,60	0,00	66,50	0,00	64,90	0,00	76,20	0,00	63,90	0,00	0,00	0,00
1	263,80	247,11	251,80	251,68	252,80	280,15	226,90	249,61	309,90	306,69	230,00	259,94	265,86	23,34
2	321,60	323,16	305,40	326,54	263,40	296,09	270,20	316,33	330,60	333,86	257,90	303,60	316,60	14,35
5	329,40	333,42	299,80	318,72	250,70	276,99	245,60	278,43	327,40	329,66	255,30	299,53	306,12	24,97
10	314,20	313,42	274,40	283,24	245,70	269,47	231,10	256,09	315,30	313,78	242,50	279,50	285,92	23,42
30	281,50	270,39	261,30	264,94	226,10	240,00	227,10	249,92	306,20	301,84	231,50	262,28	264,90	21,19
Waktu Perendaman (menit)	F4													
	1		2		3		4		5		6		% Δw	
	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	w (mg)	% Δw	Rata-rata	SB
0	72,90	0,00	60,80	0,00	88,50	0,00	79,70	0,00	75,40	0,00	81,50	0,00	0,00	0,00
1	252,30	246,09	176,40	190,13	239,50	170,62	255,30	220,33	209,20	177,45	219,10	168,83	195,58	31,18
2	280,80	285,19	194,70	220,23	268,70	203,62	298,00	273,90	237,20	214,59	252,40	209,69	234,54	35,47
5	274,80	276,95	191,00	214,14	264,70	199,10	304,40	281,93	224,60	197,88	251,40	208,47	229,75	39,00
10	291,10	299,31	184,20	202,96	249,60	182,03	293,30	268,01	216,60	187,27	236,80	190,55	221,69	49,49
30	241,00	230,59	160,10	163,32	239,00	170,06	266,10	233,88	201,30	166,98	221,30	171,53	189,39	33,32

Keterangan: % Δw = persen kenaikan bobot

Universitas Indonesia

Lampiran 19. pH Medium Uji Daya Mengembang Film

Waktu Perendaman (menit)	pH medium
0	7,39
5	6,87
10	6,79
30	6,62

Lampiran 20. Laju Transmisi Uap Air Melalui Keempat Formula Film

Sampel		Pertambahan bobot sampel hari ke- (g)				
		0	3	6	9	13
F1	1	0	0,9057	1,5280	2,1609	2,9122
	2	0	0,8682	1,5020	2,1345	2,9104
	3	0	0,9378	1,6418	2,2149	2,9764
Rata-rata		0	0,9039	1,5573	2,1701	2,9330
SB		0	0,0348	0,0744	0,0410	0,0376
F2	1	0	0,9357	1,5756	2,1513	2,8830
	2	0	0,9112	1,5166	2,1241	2,8650
	3	0	0,9208	1,5315	2,1478	2,9577
Rata-rata		0	0,9226	1,5412	2,1411	2,9019
SB		0	0,0123	0,0307	0,0148	0,0492
F3	1	0	0,8970	1,5998	2,2396	3,0085
	2	0	0,9164	1,5858	2,1706	2,9423
Rata-rata		0	0,9067	1,5928	2,2051	2,9754
SB		0	0,0137	0,0099	0,0488	0,0468
F4	1	0	0,8664	1,5133	2,1228	2,8513
	2	0	0,9764	1,6460	2,2427	3,0047
	3	0	0,9794	1,6082	2,2249	3,0303
Rata-rata		0	0,9407	1,5892	2,1968	2,9621
SB		0	0,0644	0,0684	0,0647	0,0968

Lampiran 21. Kekuatan Bioadhesif Keempat Formula Film

Sampel	Gaya Maksimum (g)			
	F1	F2	F3	F4
1	402,5	386,4	419,3	356,8
2	378,9	405,4	369,0	282,6
3	433,3	434,5	411,0	320,2
4	384,6	447,2	436,3	385,6
5	461,3	436,5	362,3	325,9
Rata-rata	412,1	422,0	399,6	334,2
SB	34,7	25,2	32,4	39,0

Lampiran 22. Data Kurva Kalibrasi Asiatikosida dalam Medium Uji Pelepasan

Konsentrasi (ppm)	AUC (mAU*min)
10	0,1360
25	0,2797
50	0,5264
100	1,0498
150	1,5630
200	2,0924

Lampiran 23. Persentase Kekeruhan Medium Uji Pelepasan Setelah Uji Pelepasan Asiatikosida dari Keempat Formula Film

Formula	%T	%Kekeruhan (100-%T)
F1	82,9	17,1
F2	89,9	10,1
F3	95,3	4,7
F4	96,9	3,1

Lampiran 24. Persen Kumulatif Pelepasan Asiatikosida dari Keempat Formula Film dalam Medium Dapar Fosfat Salin pH 7,4 – Metanol (9:1)

Waktu Perendaman (Jam)	% Kumulatif Pelepasan Asiatikosida															
	F1				F2				F3				F4			
	1	2	Rata-rata	SB	1	2	Rata-rata	SB	1	2	Rata-rata	SB	1	2	Rata-rata	SB
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	19,50	24,06	21,78	3,22	14,72	18,12	16,42	2,40	10,39	21,78	16,08	8,06	14,87	18,38	16,62	2,48
1	31,02	39,79	35,40	6,20	22,56	27,95	25,26	3,81	19,82	35,57	27,69	11,14	22,04	26,86	24,45	3,41
2	46,16	56,51	51,34	7,32	35,62	44,71	40,16	6,43	35,48	47,26	41,37	8,34	36,85	42,98	39,91	4,34
4	71,92	75,60	73,76	2,60	55,26	67,68	61,47	8,78	56,73	67,78	62,26	7,81	59,05	64,40	61,72	3,78
6	82,92	86,60	84,76	2,60	65,98	78,29	72,13	8,70	68,67	78,03	73,35	6,62	70,07	73,96	72,01	2,75
8	92,47	92,97	92,72	0,35	75,23	88,29	81,76	9,24	77,45	85,39	81,42	5,61	79,91	87,81	83,86	5,59
12	98,18	97,83	98,00	0,25	87,18	94,26	90,72	5,00	89,22	92,01	90,62	1,97	90,38	94,98	92,68	3,25
24	99,60	99,07	99,33	0,37	98,21	98,77	98,49	0,40	98,00	98,02	98,01	0,01	96,33	98,79	97,56	1,74

Lampiran 25. Analisis Kinetika Pelepasan Asiatikosida Model Higuchi dan Korsmeier-Peppas dari Keempat Formula Film

Model Pelepasan Obat			F1	F2	F3	F4
Higuchi	r^2	1	0,9929	0,9918	0,9760	0,9863
		2	0,9913	0,9919	0,9954	0,9930
		Rata-rata	0,9921	0,9919	0,9857	0,9897
		SB	0,0011	0,0001	0,0137	0,0047
	k_H (Jam ^{-1/2})	1	0,3539	0,2800	0,2987	0,3000
		2	0,3636	0,3354	0,3256	0,3159
		Rata-rata	0,3588	0,3077	0,3122	0,3080
		SB	0,0069	0,0392	0,0190	0,0112
Korsmeier-Peppas	r^2	1	0,9955	0,9979	0,9898	0,9961
		2	0,9812	0,9949	0,9883	0,9948
		Rata-rata	0,9884	0,9964	0,9891	0,9955
		SB	0,0101	0,0021	0,0011	0,0009
	n	1	0,5911	0,6154	0,7656	0,6455
		2	0,5081	0,6034	0,5059	0,5791
		Rata-rata	0,5496	0,6094	0,6358	0,6123
		SB	0,0587	0,0085	0,1836	0,0470
	k_{KP} (Jam ⁻ⁿ)	1	0,3028	0,2275	0,1903	0,2299
		2	0,3712	0,2814	0,3294	0,2761
		Rata-rata	0,3370	0,2545	0,2599	0,2530
		SB	0,0484	0,0381	0,0984	0,0327

Lampiran 26. Kadar Asiatikosida dalam Keempat Formula Film

Formula	Berat Asiatikosida dalam Film (mg)				% Perolehan Kembali			
	1	2	Rata-rata	SB	1	2	Rata-rata	SB
F1	77,58	69,17	73,38	5,94	103,44	92,23	97,84	7,93
F2	79,79	76,39	78,09	2,41	106,39	101,85	104,12	3,21
F3	73,93	73,08	73,50	0,61	98,58	97,43	98,00	0,81
F4	74,36	70,93	72,64	2,43	99,14	94,57	96,86	3,23

Lampiran 27. Persentase Penurunan Luas Area Luka pada Tikus

Kelompok	Hari ke-	% Penurunan Luas Area Luka					Rata-rata	SB
		Tikus						
		1	2	3	4	5		
F4	3	42,35	50,85	50,00	40,66	45,83	45,94	4,51
	7	64,71	84,75	73,61	69,23	75,00	73,46	7,49
F4 blanko	3	38,96	10,53	31,52	31,71	58,33	34,21	17,17
	7	31,17	14,04	54,35	48,78	71,88	44,04	22,19
KP	3	6,98	6,58	25,00	34,78	18,39	18,35	12,06
	7	45,35	88,16	62,50	92,75	83,91	74,53	20,01
KN	3	46,53	24,36	55,07	42,39	48,10	43,29	11,53
	7	71,29	75,64	88,41	92,39	91,14	83,77	9,64

Keterangan: F4 = film F4 yang mengandung asiaticosida; F4 blanko = film F4 tanpa asiaticosida; KP = kontrol positif (salep Madecassol 1%); KN = kontrol negatif (tanpa perlakuan)

Lampiran 28. Analisis Statistik Kekuatan Bioadhesif**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
F1	.208	5	.200*	.919	5	.526
F2	.290	5	.197	.902	5	.423
F3	.238	5	.200	.897	5	.393
F4	.184	5	.200	.983	5	.948

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Keterangan: Signifikansi > 0,05, kesimpulan data terdistribusi normal

Test of Homogeneity of Variances

Gaya Maksimal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.343	3	16	.795

Keterangan: Signifikansi > 0,05, data terdistribusi homogen

(Lanjutan)

ANOVA

Kekuatan Bioadhesif	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23624.150	3	7874.717	7.128	.003
Within Groups	17676.800	16	1104.800		
Total	41300.950	19			

Keterangan: Signifikansi < 0,05, kekuatan bioadhesif berbeda secara signifikan

Multiple Comparisons

Kekuatan Bioadhesif
LSD

(I) Formula	(J) Formula	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
F1	F2	-10.00000	21.02189	.641	-54.5644	34.5644
	F3	12.20000	21.02189	.570	-32.3644	56.7644
	F4	78.00000	21.02189	.002	33.4356	122.5644
F2	F1	10.00000	21.02189	.641	-34.5644	54.5644
	F3	22.20000	21.02189	.307	-22.3644	66.7644
	F4	88.00000	21.02189	.001	43.4356	132.5644
F3	F1	-12.20000	21.02189	.570	-56.7644	32.3644
	F2	-22.20000	21.02189	.307	-66.7644	22.3644
	F4	65.80000	21.02189	.006	21.2356	110.3644
F4	F1	-78.00000	21.02189	.002	-122.5644	-33.4356
	F2	-88.00000	21.02189	.001	-132.5644	-43.4356
	F3	-65.80000	21.02189	.006	-110.3644	-21.2356

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Keterangan: Signifikansi < 0,05 data berbeda secara bermakna, signifikansi > 0,05 data tidak berbeda secara bermakna

Lampiran 29. Analisis Statistik Persentase Penurunan Luas Area Luka Hari ke-3

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
F4	.216	5	.200	.913	5	.486
F4 blanko	.238	5	.200	.956	5	.779
KP	.227	5	.200	.916	5	.506
KN	.269	5	.200	.893	5	.373

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Keterangan: Signifikansi > 0,05 data terdistribusi normal

Test of Homogeneity of Variances

% Reduksi Luas Area Luka Hari ke-3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.996	3	16	.420

Keterangan: Signifikansi > 0,05 data terdistribusi homogen

ANOVA

% Reduksi Luas Area Luka Hari ke-3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2327.398	3	775.799	5.230	.010
Within Groups	2373.472	16	148.342		
Total	4700.871	19			

Keterangan: Signifikansi < 0,05, data berbeda secara bermakna

(Lanjutan)

Multiple Comparisons

% Reduksi Luas Area Luka Hari ke-3
LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
F4	F4 blanko	11.72800	7.70304	.147	-4.6017	28.0577
	KP	27.59000	7.70304	.002	11.2603	43.9197
	KN	2.64800	7.70304	.736	-13.6817	18.9777
F4 blanko	F4	-11.72800	7.70304	.147	-28.0577	4.6017
	KP	15.86200	7.70304	.056	-.4677	32.1917
	KN	-9.08000	7.70304	.256	-25.4097	7.2497
KP	F4	-27.59000	7.70304	.002	-43.9197	-11.2603
	F4 blanko	-15.86200	7.70304	.056	-32.1917	.4677
	KN	-24.94200	7.70304	.005	-41.2717	-8.6123
KN	F4	-2.64800	7.70304	.736	-18.9777	13.6817
	F4 blanko	9.08000	7.70304	.256	-7.2497	25.4097
	KP	24.94200	7.70304	.005	8.6123	41.2717

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Keterangan: Signifikansi < 0,05 data berbeda secara bermakna, signifikansi > 0,05 data tidak berbeda secara bermakna

Lampiran 30. Analisis Statistik Persentase Penurunan Luas Area Luka Hari ke-7**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
F4	.219	5	.200	.965	5	.842
F4 blanko	.185	5	.200	.985	5	.958
KP	.280	5	.200	.887	5	.343
KN	.285	5	.200	.848	5	.189

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Keterangan: Signifikansi > 0,05 data terdistribusi normal

(Lanjutan)

Test of Homogeneity of Variances

% Reduksi Luas Area Luka Hari ke-7

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.303	3	16	.047

Keterangan: Signifikansi < 0,05 data tidak terdistribusi homogen

Karena data tidak terdistribusi homogen maka analisis statistik dilakukan dengan analisis nonparametrik Kruskal Wallis.

Kruskal Wallis Test

Ranks			
	Kelompok	N	Mean Rank
% Reduksi Luas Area Luka	F4	5	10.60
	F4 blanko	5	4.40
	KP	5	11.80
	KN	5	15.20
	Total	20	

Test Statistics^{a,b}

	% Reduksi Area Luka
Chi-Square	8.714
df	3
Asymp. Sig.	.033

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

Keterangan: Signifikansi < 0,05, data berbeda secara bermakna

(Lanjutan)

Multiple Comparisons% Reduksi Luas Area Luka
LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
F4	F4 blanko	29.41600 [*]	10.20747	.011	7.7771	51.0549
	KP	-1.07400	10.20747	.918	-22.7129	20.5649
	KN	-10.31400	10.20747	.327	-31.9529	11.3249
F4 blanko	F4	-29.41600 [*]	10.20747	.011	-51.0549	-7.7771
	KP	-30.49000 [*]	10.20747	.009	-52.1289	-8.8511
	KN	-39.73000 [*]	10.20747	.001	-61.3689	-18.0911
KP	F4	1.07400	10.20747	.918	-20.5649	22.7129
	F4 blanko	30.49000 [*]	10.20747	.009	8.8511	52.1289
	KN	-9.24000	10.20747	.379	-30.8789	12.3989
KN	F4	10.31400	10.20747	.327	-11.3249	31.9529
	F4 blanko	39.73000 [*]	10.20747	.001	18.0911	61.3689
	KP	9.24000	10.20747	.379	-12.3989	30.8789

* . The mean difference is significant at the 0.05 level.

Keterangan: Signifikansi < 0,05 data berbeda secara bermakna, signifikansi > 0,05 data tidak berbeda secara bermakna

Lampiran 31. Perhitungan Jumlah Kumulatif Pelepasan Asiatikosida dari Film

$$W_t = (V_1 \cdot C) + (V_2 \cdot \sum_{t=0}^{(n-1)} C)$$

$$\% KPA = \frac{W_t}{W_0} \times 100\%$$

Keterangan:

W_t = jumlah kumulatif asiatikosida yang terdisolusi pada waktu tW₀ = banyaknya asiatikosida yang terdapat dalam film

C = konsentrasi asiatikosida yang terdisolusi pada waktu t

V₁ = volume medium disolusiV₂ = volume cairan yang disampling

% KPA = % kumulatif pelepasan asiatikosida

Universitas Indonesia

Lampiran 32. Perhitungan Parameter Kinetika Pelepasan dari Persamaan Higuchi dan Korsmeier-Peppas

Persamaan Umum	$y = bx + a$
Higuchi	$Q_t/Q_o = k t^{1/2}$
Korsmeier-Peppas	$\ln Q_t/Q_o = n \ln t + \ln k$

Keterangan: Q_t/Q_o = fraksi obat yang terlepas; t = waktu perendaman; k = laju pelepasan obat; n = eksponen pelepasan obat

Dengan mengolah data hasil disolusi menjadi persamaan $y = bx + a$, maka dapat dihitung nilai-nilai sebagai berikut:

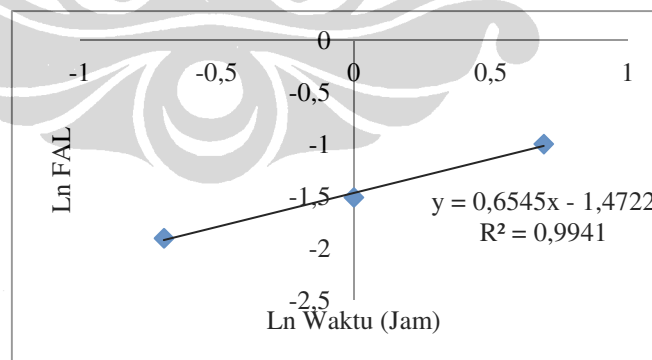
r^2 = linieritas kurva persamaan di atas

k dan $n = b$

$\ln k = a \rightarrow k = \text{arc ln } a$

Contoh perhitungan kinetika pelepasan model Korsmeier-Peppas dari Film F4 ulangan ke-1 (dari data pelepasan < 60%):

t (jam)	Q_t/Q_o	$\ln t$	$\ln Q_t/Q_o$
0,5	0,149	-0,693	-1,906
1,0	0,220	0,000	-1,512
2,0	0,368	0,693	-0,998



$$r^2 = 0,9961$$

$$y = 0,6455x - 1,4701$$

$$n = b = 0,6455$$

$$\ln k = -1,4701 \rightarrow k = 0,2299$$

Lampiran 33. Perhitungan Kadar Asiatikosida dalam Film

$$W_s = V_p \cdot C$$

$$W_A = W_s + W_{24}$$

Keterangan:

W_s = berat asiatikosida sisa dalam film setelah uji pelepasan

W_A = berat asiatikosida dalam film

W_{24} = berat kumulatif asiatikosida yang terlepas setelah 24 jam perendaman

V_p = volume medium A/B/M yang ditambahkan untuk melarutkan asiatikosida pada uji penetapan kadar sisa asiatikosida dalam film

C = konsentrasi asiatikosida sisa dalam film yang terlarut dalam medium A/B/M

Lampiran 34. Perhitungan Persentase Penurunan Luas Area Luka Tikus

Luas area luka dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Luas area luka} = \frac{W_o}{W_1} \times 1 \text{ cm}^2$$

W_o = berat kertas yang sesuai dengan gambar luka

W_t = berat rata-rata kertas ukuran 1x1 cm²

$$\% \text{ Penurunan Luas Luka hari ke } - n = 100 - \frac{\text{luas luka hari ke } - n}{\text{luas luka hari ke } 0} \times 100$$

Lampiran 35. Sertifikat Analisis Kitosan



Certificate of Analysis

Invoice No. : -
 Product Name : Chitosan Medical/Food Grade
 Batch No. : 05A0311.M.P.CHC
 Quantity : 1 Kg
 Analysis Date : February 25th, 2011


Items	Specification Standard	Test Result
Appearance	Off White - Pure White	Off White
Particle Size	Flake - Powder (User Requirement)	Powder
Degree of Deacetylation	≥ 85 %	92.2 %
Viscosity	10 - 500 cps (User Requirement)	37.7 cps
Moisture Content	≤ 10 %	6.56 %
Ash Content	≤ 1.5 %	0.99 %
Protein Content	≤ 0.5 %	complies
pH (1%)	7 - 8	complies
Insoluble	< 1 %	complies
Total Plate Count	< 1000 cfu/g	complies
Yeast and Mold	< 40 cfu/g	complies
Pathogenic Bacteria	Absent	complies
Heavy Metals	< 10 ppm	complies

Cirebon, March 10th, 2011


 BIOTECH SURINDO
 QA&QC Manager

Komp. Pelabuhan Perikanan Kajawanan, Jl. Pelabuhan Perikanan No.1 Cirebon - 45113, Indonesia P. 0231 - 224 100 | F. 0231 - 224 101 www.biotech.co.id

Lampiran 36. Sertifikat Analisis Standar Asiatikosida

SIGMA-ALDRICH®		Fluka Analytical	
		Industriestrasse 25, CH-4471 Buchs (SG), Switzerland Tel: +41 81 756 2511 Fax: +41 81 756 5449	
Certificate of Analysis			
Product Name:	ASIATICOSIDE for HPLC		
Product Number:	43191		
Product Brand:	Fluka		
Molecular Formula:	C ₁₆ H ₁₂ O ₁₆		
Molecular Mass:	959.12		
CAS Number:	16630-15-2		
TEST	SPECIFICATION	LOT BCBD9642V RESULTS	
APPEARANCE (COLOR)	WHITE	WHITE	
APPEARANCE (FORM)	POWDER	POWDER	
PURITY (HPLC AREA %)	≥ 99.5 %	99.0 %	
PROTON NMR SPECTRUM	CONFORMS TO STRUCTURE	CONFORMS	
QC RELEASE DATE	28/JAN/11		
 Edeltraud Schwärzler, Manager Quality Control Buchs, Switzerland			

Lampiran 37. Sertifikat Analisis Asiatikosida

GUANYU BIO-TECH			
西安冠宇生物技术有限公司 <u>XI'AN GUANYU BIO-TECH CO.</u>			
<u>Certificate of Analysis</u>			
Product Name	Gotu Kola P.E.	Botanical Name	<i>Centella Asiatica (L.) Urban</i>
Batch Number	GO110224	Plant Part	Air herb
Quantity	18kgs	Analysis Date	Feb.26,2011
Manufacture Date	Feb.24,2011	Certificate Date	Feb.28,2011
Analysis	Specification	Results	
Assay(BY HPLC)	Asiaticoside > 90%	91.72%	
Physical & Chemical Control			
Identification	Positive	Complies	
Appearance	Fine Powder	Complies	
Color	White	Complies	
Odor	Bitter	Complies	
Taste	Lighter bitter	Complies	
Mesh Size	80mesh	Complies	
Loss On Drying	3%Max	2.1%	
Residual Solvents	0.05%Max	Complies	
Sulphated Ash	3%Max	Complies	
Heavy Metals	5ppm	Complies	
Pesticides	Negative	Negative	
Microbiological			
Total Plate Count	<1000/gMax	Complies	
Yeast & Mold	<100/gMax	Complies	
Salmonella	Negative	Negative	
E. Coli	Negative	Negative	
Conclusion	Complies with specification		
Storage	Store in cool & dry place, Keep away from strong light and heat.		
Shelf life	18 Months when properly stored		
_____ Quality Assurance Officer		_____ Corrector	_____ Analyst
GUANYU BIO-TECHNOLOGY CO., LTD Add : No.212Xinhua road, Chang'an District , Xi'an China		Tel.: 0086-29-88907599 Fax: 0086-29-85658727	