

**FORMULASI DAN AKTIVITAS GEL HPMC-KITOSAN  
TERHADAP PROSES PENYEMBUHAN LUKA BAKAR  
DERAJAT IIA PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)  
GALUR WISTAR**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**DIONI FADIA ZATALINI**

**NIM. 13670029**



**JURUSAN FARMASI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN**

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK**

**IBRAHIM MALANG**

**2017**

**FORMULASI DAN AKTIVITAS GEL HPMC-KITOSAN TERHADAP  
PROSES PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT IIA PADA  
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR**

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan  
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)**

**JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

**2017**

**FORMULASI DAN AKTIVITAS GEL HPMC-KITOSAN TERHADAP  
PROSES PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT IIA PADA  
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**DIONI FADIA ZATALINI**

**NIM. 13670029**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:**

**Tanggal: November 2017**

**Pembimbing I**

**Pembimbing II**



**Weka Sidha Bhagawan, M.Farm, Apt**  
**NIDT. 19881124 20160801 1 085**



**Abdul Hakim, S.Si, M.PI., Apt**  
**NIP. 19761214 200912 1 002**

**Mengetahui,**

**Ketua Jurusan Farmasi**



**Dr. Rohatul Mutiah, M.Kes., Apt**  
**NIP. 19800203 200912 2 001**

**FORMULASI DAN AKTIVITAS GEL HPMC-KITOSAN TERHADAP  
PROSES PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT IIA PADA  
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR**

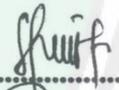
SKRIPSI

Oleh:

**DIONI FADIA ZATALINI**

**NIM. 13670029**

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)  
Tanggal: November 2017

<b>Penguji Utama</b>	: Dewi SintaMegawati, M.Sc NIDT. 19840116 20170101 2 125	(.....  )
<b>Ketua Penguji</b>	: Rahmi Annisa, M.Farm.,Apt NIDT. 19890416 20170101 2 123	(.....  )
<b>Sekretaris Penguji</b>	: Weka Sidha B., M.Farm.,Apt NIDT. 19881124 20160801 1 085	(.....  )
<b>Anggota Penguji</b>	: Abdul Hakim, S.SI, M.PI.,Apt NIP. 19761214 200912 1 002	(.....  )



Mengesahkan,

Ketua Jurusan Farmasi

**Dr. Rohatul Mutiah, M.Kes, Apt**

**NIP. 19800203 200912 2 001**

## HALAMAN PERSEMBAHAN

*Bismillahirrohmannirrohim*

Dari relung hati yang dalam...

Kuucapkan beribu syukur atas nikmat-Mu Ya Allah

Yang telah memberikan kekuatan dalam setiap langkah

Sholawat serta salam kepada Rasulullah Muhammad SAW yang telah memberiku  
kebnaggaan dengan menjadi salah satu orang yang terpilih

**Ku persembahkan Skripsi ini:**

Untuk ayahku Agung Budiono dan ibuku Sri Handayani

yang dengan ikhlas mendidikku dari kecil

Ku harap Engkau senantiasa di bawah naungan kasih sayang-Nya

Untuk adikku tercinta Durrah Izza Zharfani yang selalu mensupport untuk terus  
berjuang hingga Skripsi ini selesai

Untuk saudara-saudaraku dan teman-teman GOLFY 2013

Terimakasih atas doanya selama ini

Thanks for All....

## MOTTO

Tidak ada manusia yang diciptakan gagal, yang ada hanyalah mereka gagal memahami potensi diri dan gagal merancang kesuksesannya

Tiada yang lebih berat timbangan Allah pada Akhir nanti, selain Taqwa dan akhlak mulia seperti wajah dipenuhi senyum untuk kebaikan dan tidak menyakiti sesama (HR. Tirmidzi)

Oleh karena itu

إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ﴿٦﴾

“*Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.*” (Q.S Al-Insyirah : 6)

### PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dioni Fadia Zatalini  
NIM : 13670029  
Jurusan : Farmasi  
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan  
Judul : Formulasi dan Aktivitas Gel HPMC-Kitosan Terhadap  
Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIA Pada Tikus  
Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 30 November 2017

Yang membuat pernyataan,



Dioni Fadia Zatalini

NIM. 13670029

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

Syukur Alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Formulasi dan Aktivitas Gel HPMC-Kitosan Terhadap Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIA pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar”** dan menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan tugas akhir/skripsi ini dengan baik.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terima kasih seiring doa dan harapan jazakumullah ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. DR. H. Abdul Haris, M.Ag selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman berharga.
2. Prof. Dr. Dr Bambang Pardjianto, Sp.B, Sp.BP-RE selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr.Roihatul Mutiah, M.Kes.,Apt selaku ketua jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat dan membimbing dalam memperoleh ilmu di jurusan Farmasi.

4. Bapak Weka Sidha Bhagawan, M.Farm., Apt, Ibu Rahmi Annisa, M.Farm.,Apt dan Bapak Abdul Hakim S.SI, M.PI, Apt selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan pengarahan dan pengalaman dalam membimbing penulis menyelesaikan skripsi ini.
5. Ibu Dewi Sinta Megawati, M.Sc selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan evaluasi dan saran dalam penyusunan proposal skripsi ini.
6. Segenap civitas akademika Jurusan Farmasi, terutama seluruh dosen, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
1. Abi Agung Budionodan Umi Sri Handayani tercinta yang senantiasa memberikan yang telah menjadi orang tua terhebat dan selalu memberikan curahan kasih sayang, doa, nasehat, dukungan moral maupun materil. Tidak ada apapun di dunia ini yang dapat membalas semua kebaikan, cinta, dan kasih sayang yang telah kalian berikan kepada anakmu, semoga Allah selalu memberikan perlindungan dan cinta kasih kepada orang tua hamba.
7. Adekku Durrah Izza Zharfani dan kakak tercinta Intan Kamilia Habsari yang selalu memberikan dukungan dan membantu penulis menyelesaikan skripsi ini.
8. Sahabat tercinta, Diana, Anggun, Ratih, Dina, Olden, Fitya, yolanda yang selalu membantu dengan sabar dan meluangkan waktunya untuk membantu penulis mengerjakan penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini.

9. Teman-teman angkatan Farmasi Golfy 2013 yang memberikan pengalaman dan kenangan berharga yang tidak bisa dilupakan selama menempuh pendidikan di Farmasi UIN Malang.
10. Dan semua pihak yang ikut membantu dan menyelesaikan skripsi ini baik berupa materil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

*Wassalamu'alaikum Wr.Wb.*

Malang, 30November 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>COVER</b>	
<b>HALAMAN JUDUL</b>	
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b>	
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b>	
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b>	
<b>MOTTO</b>	
<b>HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN</b>	
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	i
<b>DAFTAR ISI.....</b>	iv
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	viii
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	ix
<b>DAFTAR GRAFIK .....</b>	x
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	xi
<b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>	xii
<b>ABSTRAK .....</b>	xiii
<b>ABSTRACT .....</b>	xiv
<b>ملخص.....</b>	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	8
1.5 Batasan Masalah.....	8
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Hewan dalam Perspektif Islam .....	9
2.2 Kitosan.....	10
2.2.1 Sifat-sifat Kitosan .....	12
2.2.2 Pembuatan Kitosan .....	14
2.2.3 Derajat Deasetilasi .....	16
2.2.4 Peran Kitosan dalam Penyembuhan Luka .....	17
2.3 Kulit.....	20
2.3.1 Definisi Kulit .....	20
2.3.2 Struktur Kulit .....	20

2.3.2.1 Epidermis .....	21
2.3.2.2 Dermis .....	22
2.3.2.3 Subkutis .....	23
2.4 Luka .....	24
2.4.1 Definisi Luka .....	24
2.5 Luka Bakar .....	25
2.5.1 Definisi Luka Bakar .....	25
2.5.2 Etiologi .....	
2.5.3 Patofisiologi .....	27
2.5.4 Zona Kerusakan Jaringan .....	28
2.5.3.1 Zona Koagulasi .....	28
2.5.3.2 Zona Stasis .....	28
2.5.3.3 Zona Hiperemia .....	28
2.5.5 Luas Luka Bakar .....	29
2.5.6 Klasifikasi Luka Bakar .....	30
2.5.6.1 Luka Bakar Derajat I .....	30
2.5.6.2 Luka Bakar Derajat II .....	31
2.5.6.3 Luka Bakar Derajat III .....	33
2.5.7 Proses Penyembuhan Luka .....	34
2.5.7.1 Fase Inflamasi .....	35
2.5.7.2 Fase Proliferasi .....	36
2.5.7.3 Fase Maturasi .....	38
2.5.8 Kontraksi Luka .....	39
2.5.8.1 Konsep Kontraksi Luka .....	39
2.5.8.2 Perhitungan Kontraksi Luka .....	40
2.6 Gel .....	41
2.6.1 Keunggulan Gel Pada Sediaan Farmasi untuk Kulit .....	40
2.6.2 Komponen Gel .....	43
2.6.2.1 Pembentuk Gel .....	43
2.6.2.2 Humektan .....	44
2.6.2.3 Pengawet .....	44
2.6.2.4 Pelarut .....	45
<b>BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS .....</b>	<b>46</b>
3.1 Kerangka Konseptual .....	46
3.2 Uraian Kerangka Konseptual .....	47
3.3 Hipotesis Penelitian .....	49
<b>BAB IV METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>50</b>
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian .....	50

4.1.1 Jenis Penelitian.....	50
4.1.2 Rancangan Penelitian.....	50
4.1.2.1 Uji Mutu Fisik Sediaan Gel dengan Variasi Konsentrasi Gelling Agent.....	50
4.1.2.2 Uji Mutu Fisik Sediaan Gel dengan Variasi Kitosan.....	51
4.1.2.3 Uji Aktivitas Gel dengan Variasi Konsentrasi Kitosan Terhadap Kecepatan Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIA .....	52
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	53
4.2.1 Waktu Penelitian.....	53
4.2.2 Tempat Penelitian .....	53
4.3 Populasi dan Sampel.....	53
4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasioanal.....	53
4.4.1 Variabel Penelitian.....	55
4.4.2 Definisi Operasioanal .....	56
4.5 Alat dan Bahan Penelitian .....	58
4.5.1 Alat.....	58
4.5.2 Bahan .....	58
4.6 Tahapan Penelitian.....	59
4.6.1 Rancangan Formulasi .....	59
4.6.2 Pembuatan Gel dengan Kombinasi Variasi Basis.....	61
4.6.3 Pembuatan Gel dengan Variasi Kitosan .....	61
4.6.4 Evaluasi Sediaan .....	62
4.6.3.1 Uji Organoleptis.....	62
4.6.3.2 Uji Homogenitas .....	62
4.6.3.3 Uji pH .....	62
4.6.3.4 Uji Daya Sebar.....	63
4.6.3.5 Uji Stabilitas Fisik .....	63
4.6.3.6 Uji Viskositas.....	64
4.6.5 Teknik Sterilisasi .....	64
4.6.6 Pembuatan Luka Bakar Derajat IIA.....	64
4.6.7 Perawatan Luka Bakar Derajat IIA.....	65
4.7 Pengumpulan Data.....	68
4.7.1 Mutu Fisik Sediaan Gel dengan Variasi Konsentrasi Kitosan..	68
4.7.2 Kecepatan Penyembuhan Luka Bakar dengan Variasi Kitosan dalam Sediaan Gel .....	68
4.8 Analisis Data.....	68
4.8.1 Uji Normalitas dan Homogenitas.....	69
4.8.2 Uji One Way ANOVA.....	70
4.8.3 Uji Perbandingan Berganda( <i>Post Hoc Test</i> ).....	70

<b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>71</b>
5.1 Optimasi Gel Kitosan dengan Basis HPMC .....	71
5.1.1 Pembuatan Gel .....	72
5.1.2 Evaluasi Optimasi Basis Gel Kitosan .....	73
5.1.2.1 Uji Organoleptis.....	73
5.1.2.2 Uji Homogenitas .....	74
5.1.2.3 Uji pH .....	74
5.1.2.4 Uji Daya Sebar .....	75
5.1.2.5 Uji Viskositas.....	78
5.2 Pembuatan Gel Kitosan.....	80
5.2.1 Evaluasi Sediaan .....	81
5.2.1.1 Uji Organoleptis.....	81
5.2.1.2 Uji Homogenitas .....	82
5.2.1.3 Uji pH .....	83
5.2.1.4 Uji Daya Sebar.....	85
5.2.1.5 Uji Viskositas.....	87
5.2.1.6 Uji Stabilitas Sediaan Gel Kitosan.....	89
5.3 Uji Aktivitas Gel Kitosan secara In Vivo .....	95
5.3.1 Hasil Induksi Luka Bakar Derajat IIA .....	100
5.3.2 Luas Area Kontraksi Luka Bakar Derajat IIA .....	103
5.3.3 Pengaruh Pemberian Gel Kitosan secara Topikal.....	103
<b>BAB VI PENUTUP .....</b>	<b>110</b>
6.1 Kesimpulan .....	110
6.2 Saran.....	111
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>112</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>122</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Definisi Operasional Penelitian .....	56
Tabel 4.2 Formulasi Sediaan Gel dengan Variasi Kombinasi Basis.....	59
Tabel 4.3 Formulasi Sediaan Gel dengan Variasi Konsentrasi Kitosan .....	60
Tabel 5.1 Formula Optimasi Basis Gel Kitosan.....	72
Tabel 5.2 Uji Organoleptis Gel Kitosan.....	73
Tabel 5.3 Hasil Uji pH Optimasi Basis Gel Kitosan.....	74
Tabel 5.4 Diameter Daya Sebar Optimasi Basis Gel Kitosan.....	75
Tabel 5.5 Uji Viskositas Optimasi Gel Kitosan .....	78
Tabel 5.6 Formula Gel Kitosan.....	81
Tabel 5.7 Hasil Organoleptis Gel Kitosan .....	82
Tabel 5.8 Hasil pH Sediaan Gel Kitosan .....	83
Tabel 5.9 Daya Sebar Gel Kitosan.....	85
Tabel 5.10 Hasil Uji Viskositas Gel Kitosan .....	87
Tabel 5.11 pH Gel Kitosan Setelah <i>Cycling Test</i> .....	90
Tabel 5.12 Viskositas Gel Kitosan setelah <i>Cycling Test</i> .....	93
Tabel 5.13 Luas Luka Hari Ke-0.....	99
Tabel 5.14 Diameter Luka Bakar .....	101
Tabel 5.15 Presentase Kontraksi Luka Bakar .....	101
Tabel 5.16 Hasil Perbandingan Antar Kelompok Perlakuan dengan Tukey HSD Hari ke-21 .....	104

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Selulosa, Kitin, Kitosan .....	13
Gambar 2.2 Reaksi Transformasi Kitin menjadi Kitosan .....	16
Gambar 2.3 Struktur Kulit Normal .....	24
Gambar 2.4 Luka Bakar Derajat I .....	31
Gambar 2.5 Area Luka Bakar Derajat I .....	31
Gambar 2.6 Area Luka Bakar Derajat II .....	32
Gambar 2.7 Luka Bakar Derajat II Dangkal .....	32
Gambar 2.8 Luka Bakar Derajat II Dalam .....	33
Gambar 2.9 Luka Bakar Derajat III .....	34
Gambar 2.10 Area Luka Bakar Derajat III .....	34
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Penelitian .....	46
Gambar 4.1 Uji Mutu Fisik Sediaan Gel dengan Variasi Kombinasi <i>Gelling Agent</i> .....	50
Gambar 4.2 Uji Mutu Fisik Sediaan Gel dengan Variasi Kitosan .....	51
Gambar 4.3 Uji Aktivitas Gel dengan Variasi Konsentrasi Kitosan Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIA .....	52
Gambar 5.1 Gel Kitosan dengan Variasi Basis .....	73
Gambar 5.2 Organoleptis Gel Kitosan .....	82
Gambar 5.3 Homogenitas Gel Kitosan .....	82
Gambar 5.4 Luka Bakar Hari ke-0 .....	99
Gambar 5.5 Perbedaan Kontraksi Luka Bakar Derajat IIA .....	100
Gambar 5.6 Diameter Luka Bakar Derajat IIA Hari ke-21 .....	102

## DAFTAR GRAFIK

Grafik 5.1 Daya Sebar Optimasi Basis Gel.....	76
Grafik 5.2 pH sediaan Gel Kitosan.....	83
Grafik 5.3 Daya Sebar Gel Kitosan.....	86
Grafik 5.4 Viskositas Gel Kitosan.....	88
Grafik 5.5 Stabilitas pH Gel Kitosan.....	90
Grafik 5.6 Daya Sebar Gel Kitosan Sebelum dan Sesudah <i>Cycling Test</i> .....	91
Grafik 5.7 Stabilitas Viskositas Gel Kitosan.....	93
Grafik 5.8 Stabilitas Viskositas Gel Kitosan.....	94



## DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Perhitungan Larutan Buffer Asetat
- Lampiran 2. Diagram Pembuatan Optimasi Basis HPMC pada Gel Kitosan
- Lampiran 3. Diagram Pembuatan Sediaan Gel dengan Variasi Konsentrasi Kitosan
- Lampiran 4. Pembuatan Luka Bakar Derajat IIA
- Lampiran 5. Pembuatan Luka Bakar Derajat IIA
- Lampiran 6. Hasil Luas Luka Bakar Derajat IIA
- Lampiran 7. Hasil Prosentase Kontraksi Luka Bakar Derajat IIA
- Lampiran 8. Normalitas dan Homogenitas Gel Kitosan pH Sebelum *Freeze Thaw Test*
- Lampiran 9. Uji One Way ANOVA Gel Kitosan pH Sebelum *Freeze Thaw Test*
- Lampiran 10. Uji Normalitas dan Homogenitas Gel Kitosan pH Sesudah *Freeze Thaw Test*
- Lampiran 11. Uji One Way ANOVA Gel Kitosan pH Sesudah *Freeze Thaw Test*
- Lampiran 12. Uji T-Test Gel Kitosan
- Lampiran 13. Uji Normalitas Data Luas Area Luka Bakar Derajat IIA Hari-0
- Lampiran 14. Uji Homogenitas Data Luas Luka Bakar Derajat IIA hari ke-0 dan Hari ke-21
- Lampiran 15. Uji One Way ANOVA Kontraksi Luka Bakar Derajat IIA Hari ke-0 dan Hari ke-21
- Lampiran 16. Uji Tukey HSD Kontraksi Luka Bakar Derajat IIA Hari ke-0
- Lampiran 17. Uji Tukey HSD Kontraksi Luka Bakar Derajat IIA Hari ke-21
- Lampiran 18. Foto Pembuatan Gel dan Pembuatan Luka Bakar Derajat IIA
- Lampiran 19. Perhitungan Dosis Anestesi Tikus
- Lampiran 20. Hasil Kesembuhan Luka Bakar Derajat IIA
- Lampiran 21. Keterangan Kelaikan Etik

## DAFTAR SINGKATAN

bFGF	: <i>Basic Fibroblast Growth Factor</i>
BMZ	: <i>basement membranezone</i>
Cps	: <i>centipoise</i>
EGF	: <i>Epidemal growth factor</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
D-GlcN	: glukosamin
D-GlcNA	: N-asetilglukosamin
HPMC	: Hidroksipropil Metilselulosa
KGF	: <i>keratinocyte growth factor</i>
MN	: <i>mononuclear</i>
Mm	: Milimeter
NaCl 0,9%	: Normal Saline
PDGF	: <i>platelet-derived growth factor</i>
p.a	: Pro analisis
pH	: <i>Power of Hydrogen</i>
PMN	: <i>Polymorphonuclear</i>
Swt.	: Subhanahu wa ta'ala
TEA	: Triethanolamine
TGF- $\alpha$	: <i>transforming growth factor alpha</i>
TGF- $\beta$ 1	: <i>transforming growth factor beta</i>
Vol	: Volume

## ABSTRAK

Dioni, F. Z. Formulasi dan Aktivitas Gel HPMC-Kitosan terhadap Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIA pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. Skripsi. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Weka Sidha Bhagawan, M.Farm.,Apt; Pembimbing II: Abdul Hakim, S.Si, M.PI.,Apt; Konsultan: Rahmi Annisa, M.Farm.,Apt.

**Kata Kunci:** kitosan, luka bakar, penyembuhan, kontraksi luka, HPMC, sifat fisik, sediaan gel

Kitosan merupakan produk turunan dari polimer *chitin* yaitu produk limbah dari kulit udang atau rajungan yang dapat membantu penyembuhan luka bakar. Kitosan telah diteliti mampu memacu proliferasi sel, meningkatkan kolagenisasi, dan mengakselerasi regenerasi sel (reepilelisis) pada kulit yang terluka, serta dapat memacu migrasi sel PMN. Peningkatan kontraksi luka bakar dapat dilakukan dengan meningkatkan penggunaan pada kulit dengan memformulasikan dalam sediaan gel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh optimasi variasi konsentrasi HPMC dan kitosan di dalam gel terhadap sifat fisik, stabilitas fisik dan aktivitas gel kitosan terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat IIA pada tikus putih. Desain penelitian menggunakan *true experimental post test* dilakukan terhadap hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar. Sampel di bagi dalam enam kelompok yaitu 4 pelakuan kitosan: konsentrasi 0%, 1,25%, 2,5%, 3,75% dan kelompok kontrol dengan bioplacenton dan normal saline 0,9%. Data yang diukur adalah kontraksi luka pasca perawatan luka selama 21 hari.

Hasil penelitian sifat fisik gel menunjukkan dengan peningkatan konsentrasi kitosan dapat meningkatkan viskositas gel, pH dan menurunkan daya sebar gel, namun tidak mempengaruhi organoleptis dan homogenitas sediaan gel. Hasil uji stabilitas fisik gel menunjukkan bahwa adanya variasi konsentrasi kitosan gel sedikit stabil selama penyimpanan. Sedangkan peningkatan konsentrasi HPMC meningkatkan viskositas dan menurunkan daya sebar gel, namun tidak mempengaruhi organoleptis, homogenitas dan pH gel. Analisa data menggunakan *one way ANOVA* dilanjutkan dengan uji *Tuckey HSD*. Pemberian gel kitosan dosis 1,25% dan 2,5% signifikan mempercepat penyembuhan luka bakar dibandingkan dengan kontrol normal saline 0,9% ( $p=0,000$ ;  $p=0,000$ ) dan tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif ( $p=1,000$ ;  $p=0,256$ ). Gel kitosan 2,5% paling signifikan mempercepat penyembuhan luka dibandingkan dengan kitosan 1,25% ( $p=0,356$ ). Penelitian ini membuktikan bahwa dosis gel kitosan terbaik adalah 2,5%.

## ABSTRACT

Dioni, F. Z. Formulation and Activity of HPMC-Chitosan Gel towards Healing Process of IIA-degree Burns in White Rat (*Rattus norvegicus*) Wistar Strain. Thesis. Department of Pharmacy Faculty of Medical and Health Science Maulana Malik Ibrahim Islamic State University Malang. Advisor I: Weka Sidha Bhagawan, M.Farm., Apt; Advisor II: Abdul Hakim, S.Si, M.PI., Apt; Consultant: Rahmi Annisa, M.Farm., Apt.

**Keywords:** Chitosan, Burns, Healing, Wound Contraction, HPMC, Physical, gel preparation

Chitosan is a derivative product of chitin polymer which is a waste product from shrimp shell or crab that can help heal burns. Chitosan has been studied to spur cell proliferation, increase collagenization, and accelerate cell regeneration (repalletization) in injured skin, and can stimulate migration of PMN cells. Increased contraction of burns can be done by increasing the use of the skin by formulating in the gel preparation. This study aims to determine the effect of optimization of HPMC and chitosan concentration variations in gel on physical properties, physical stability and chitosan gel activity toward healing process of IIA-degree burn in white rat. This research uses true experimental design, posttest is done on white rats (*Rattus norvegicus*) Wistar Strain. Samples were divided into six groups: 4 chitosan: concentration 0%, 1.25%, 2.5%, 3.75% and control group with bioplacenton and normal saline 0.9%. The measured data was wound contraction after wound care for 21 days.

The results of the physical properties of the gel showed that increased chitosan concentration may help increase gel viscosity, pH and reduce gel dissolvability, but did not affect the organoleptic and gel homogeneity. The result of gel physical stability test showed that the variation of chitosan gel concentration was slightly stable during storage. While increasing HPMC concentrations increases viscosity and reduces the gel dissolvability, it does not affect organoleptic, homogeneity and gel pH. Data analysis was done using one way ANOVA followed by Tuckey test. 1.25% and 2.5% significantly decreased wound healing compared with normal control saline 0.9% ( $p = 0,000$ ;  $p = 0.000$ ) and did not differ significantly with positive control ( $p = 1,000$ ;  $p = 0,256$ ). 2.5% chitosan gel most significantly accelerated wound healing compared with chitosan 1.25% ( $p = 0.356$ ). This study proves that the best chitosan gel dose is 2.5%.

## المخلص

ديبوني. ف. ز. صياغة ونشاط هلام هممو الشيتوزان على عملية الشفاء حروق على مستوى الثنية - أ في الجردان الأبيض (راتوس نورفيجيكوس) ويستار سلالة البحث العلمي. قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية جامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف (1): ويكا صيدا باغوان الماجستير؛ المشرف (2): عبد الحكيم المجستير؛ المستشارة: رحمي النساء المجستير.

كلمة المفتاح: الشيتوزان، الحروق، الشفاء، تقلصات الجروح، همك، الخصائص الفيزيائية، إعداد هلام

الشيتوزان هو منتج مشتق من بوليتين البوليتين التي هي النفايات المنتج من الروبيان قذيفة أو السلطعون التي يمكن أن تساعد على شفاء الحروق. وقد تم دراسة الشيتوزان لتحفيز تكاثر الخلايا، وزيادة الكولاجين، وتسريع تجديد الخلايا (ريبيلزاتيون) في الجلد المصاب، ويمكن أن تحفز هجرة خلايا بن. ويمكن زيادة انكماش الحروق عن طريق زيادة استخدام الجلد عن طريق صياغة في إعداد هلام. وتهدف هذه الدراسة لتحديد تأثير التحسين من همك والشيتوزان الاختلافات تركيز في هلام على الخصائص الفيزيائية والاستقرار المادي والشيتوزان هلام النشاط نحو الشفاء عملية حرق درجة إيا في الفران البيضاء. أجري التصميم التجريبي باستخدام الاختبار البعدي التجريبي الحقيقي على فران ويستار (راتوس نورفيجيكوس). تم تقسيم العينات إلى ست مجموعات: 4 شيتوزان: تركيز 0.75، 1.25، 2.5، 3.75% ومجموعة السيطرة مع بيوبلاستون والمالحة الطبيعية 0.9%. وكانت البيانات المقاسة جرح انكماش بعد الجرح الرعاية لمدة 21 يوما.

وأظهرت نتائج الخصائص الفيزيائية للهلام أن زيادة تركيز الشيتوزان زيادة للزوجة هلام، ودرجة الحموضة وانخفاض هلام قابلية الذوبان، ولكن لم يؤثر على التجانس الحسية والهلام. وأظهرت نتيجة هلام اختبار الاستقرار المادي أن الاختلاف من تركيز هلام الشيتوزان كان مستقرا قليلا أثناء التخزين. في حين أن زيادة تركيزات همك يزيد للزوجة ويقلل من ذوبان هلام، فإنه لا يؤثر على الحسية، التجانس وهلام درجة الحموضة. تحليل البيانات باستخدام طريقة واحدة أنوفا تليها اختبار تاكي. 1.25% و 2.5% انخفاضاً معنوياً في التنام الجروح مقارنة بالمحلول الملحي العادي 0، 9% (p=0,000، p=0,000) ولم يختلف معنوياً مع السيطرة الإيجابية (p=1,000؛ p=0,000، 5.2%) من هلام الشيتوزان تسارعت بشكل ملحوظ التنام الجروح مقارنة مع الشيتوزان 1.25% (p=0.356). هذه الدراسة تثبت أن أفضل جرعة الشيتوزان هلام هو 2.5%.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Luka bakar atau *combustio* merupakan luka yang unik diantara bentuk-bentuk luka lainnya karena luka tersebut meliputi sejumlah besar jaringan mati (eskar) yang tetap berada pada tempatnya untuk jangka waktu yang lama (Smeltzer *et al.*, 2001). Luka bakar adalah luka yang disebabkan karena pengalihan energi dari suatu sumber panas kepada tubuh. Panas dapat dipindahkan lewat hantaran atau radiasi elektromagnetik (Smeltzer and Bare, 2010). Insiden luka bakar di RSCM pada tahun 2012 sejumlah 27,6%, dan jumlah kasus luka bakar mengalami peningkatan dari 76 kasus pada tahun 2005 menjadi 82 kasus pada tahun 2006 di RSUP Dr. Sardjito. Luka bakar paling sering terjadi di rumah dan yang ditemukan terbanyak adalah luka bakar derajat II (Nurdiana, *dkk.*, 2008). Luka bakar dapat dikelompokkan menjadi luka bakar termal, radiasi, listrik dan kimiawi (Betz, 2009).

Menurut Moenajat (2011), luka bakar termal adalah suatu kerusakan atau kehilangan jaringan yang disebabkan kontak antara kulit terhadap sumber panas seperti api, air panas, atau logam panas. Terdapat tiga klasifikasi luka bakar berdasar kedalaman luka, yakni luka bakar derajat satu, dua dan tiga (Smeltzer *et al.*, 2001). Pada luka bakar derajat I hanya mengenai lapisan epidermis dan biasanya sembuh dalam waktu 5-7 hari (Syamsuhidayat dan Jong, 1997). Luka

bakar derajat II adalah kerusakan yang meliputi lapisan epidermis dan sebagian dermis disertai lepuh (Brunner and Suddarth, 2000). Luka bakar derajat II dibedakan menjadi luka bakar derajat IIA dan luka bakar derajat IIB. Luka bakar derajat IIA yang tidak terinfeksi bisa sembuh spontan dalam 2-3 minggu, luka bakar derajat IIB sekitar 3-8 minggu (Yui *et al.*, 2011).

Kontraksi luka adalah gerakan centripetal dari tepi luka menuju arah tengah luka. Kontraksi luka maksimal berlanjut sampai hari ke-12 atau ke-15 tapi juga bisa berlanjut apabila luka tetap terbuka (Suryadi, 2012). Kontraksi luka disebabkan karena miofibroblas kontraktil luka bervariasi tergantung kedalaman luka. Proses penyembuhan dapat dilihat secara fisik dengan menilai tingkat kontraksi luka (Li *et al.*, 2007).

Salah satu bahan alami yang dapat membantu penyembuhan luka adalah kitosan. Kitosan merupakan produk turunan dari polimer chitin yaitu produk limbah dari kulit udang atau rajungan yang diperoleh dari pengolahan industri perikanan (Putu, 2007). Kitosan telah diteliti mampu memacu proliferasi sel, meningkatkan kolagenisasi, dan mengakselerasi regenerasi sel (reepilelisisasi) pada kulit yang terluka, serta dapat memacu migrasi sel PMN (Aditya, *et al.*, 2012).

Mayoritas masyarakat menyukai sediaan topikal dalam proses penyembuhan luka bakar. Pemilihan sediaan topikal karena sediaan topikal langsung dapat diaplikasikan pada tempat luka sehingga diharapkan dapat langsung memberikan efek pada tempat luka. Salah satu sediaan topikal yang biasa digunakan oleh masyarakat adalah sediaan gel. Sediaan gel dipilih karena merupakan sediaan yang stabilitasnya baik, berupa sediaan halus, mudah

digunakan, mampu menjaga kelembaban kulit, tidak mengiritasi kulit, mempunyai tampilan yang lebih menarik, dan lebih lama berada di jaringan luka dibandingkan dengan bentuk sediaan lain (Hasyim *et al.*, 2012).

Dalam pembuatan gel, pemilihan *gelling agent* sangat menentukan hasil akhir sediaan. HPMC (hidroksipropil metilselulose) adalah turunan selulosa eter semisintetik yang telah digunakan secara luas sebagai polimer hidrofilik dalam sistem pemberian obat oral dan topikal (Rogers, 2009). Pemilihan basis HPMC dikarenakan penampakan gel jernih dan kompatibel dengan bahan-bahan lain, kecuali *oxidative materials* (Gibson, 2001) serta dapat mengembang terbatas dalam air sehingga merupakan bahan pembentuk hidrogel yang baik (Suardiet *al.*, 2008). Keunggulan HPMC yaitu membentuk gel yang bening, mudah larut dalam air, bersifat netral, viskositas stabil dan resisten terhadap pertumbuhan mikroba (Rowe *et al.*, 2009).

Kitosan dijadikan bahan aktif dalam formula karena kitosan memiliki potensi yang besar dalam segi pengobatan. Kitosan didapat dengan cara isolasi dari kulit udang dan hewan *crustace*. Allah SWT tidak pernah menciptakan segala sesuatu dengan sia-sia. Allah menciptakan alam dan isinya seperti hewan dan tumbuh-tumbuhan mempunyai manfaat besar. Manusia diberi kesempatan yang seluas-luasnya untuk mengambil manfaat dari hewan dan tumbuhan (Shihab, 2001). Allah berfirman dalam Al-Qur'an surat Al-Imron: [3] : 191

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

*Artinya: “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia. Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka.”(Q.S Ali-Imran: 191).*

Ayat di atas menerangkan bahwa orang menggunakan fikirannya dan menggambarkan keagungan Allah serta memikirkan kejadian-kejadian di bumi beserta rahasia-rahasia dan manfaat yang terkandung di dalamnya. Allah benar-benar telah mengatur segala sesuatu dengan sempurna. Tiada yang Allah ciptakan dengan main-main (Shihab, 2001). Semua yang diciptakan memiliki manfaat, seperti halnya cangkang yang selama ini dianggap sebagai limbah dan tidak berguna yang ternyata mampu dijadikan sebagai penyembuh luka bakar.

Keberadaan udang yang melimpah termasuk dalam keanekaragaman hayati laut. Keanekaragaman hayati ini sengaja diciptakan Allah SWT untuk manusia agar dapat dimanfaatkan dan dieksploitasi dengan sebaik-baiknya. Hal ini telah terkandung dalam firman Allah SWT:

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى الْفُلْكَ  
مَوَاجِرَ فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ ۗ وَلِعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ ﴿١٤﴾

*Artinya: “Dan Dialah, Allah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daripadanya daging yang segar (ikan), dan kamu mengeluarkan dari lautan itu perhiasan yang kamu pakai; dan kamu melihat bahtera berlayar padanya, dan supaya kamu mencari (keuntungan) dari karunia-Nya, dan supaya kamu bersyukur.” (Q.S. an-Nahl: 14).*

Shihab (2002) memberikan tafsir pada ayat di atas bahwa Allah SWT menundukkan lautan untuk melayani manusia, untuk ditangkap dan untuk disantap daging segarnya. Dari laut tersebut dapat dikeluarkan permata serta dimanfaatkan untuk memperoleh rezeki dan dimanfaatkan untuk hal-hal lain.

Kitosan memiliki manfaat dalam bidang kesehatan khususnya dalam pengobatan yaitu bisa mempercepat proses penyembuhan luka bakar. Luka bakar menyebabkan kerusakan pada jaringan kulit. Berhubungan dengan kulit, ada salah satu ayat dalam Al-Qur'an yang menarik perhatian para ulama dan ilmuwan. Ayat ini menjelaskan tentang pedihnya siksa neraka. Sesuai dengan firman Allah dalam surah An-Nisa (56):7

إِنَّ الَّذِينَ كَفَرُوا بِآيَاتِنَا سَوْفَ نُصَلِّيهِمْ نَارًا كُلَّمَا نَضِجَتْ جُلُودُهُمْ بَدَّلْنَاهُمْ جُلُودًا غَيْرَهَا لِيَذُوقُوا الْعَذَابَ إِنَّ اللَّهَ كَانَ عَزِيزًا حَكِيمًا ﴿٥٦﴾

*Artinya: "Sesungguhnya orang-orang yang kafir kepada ayat-ayat Kami, kelak akan Kami masukkan mereka ke dalam neraka. Setiap kali kulit mereka hangus, Kami ganti kulit mereka dengan kulit yang lain, supaya mereka merasakan azab. Sesungguhnya Allah Maha Perkasa lagi Maha Bijaksana." (QS. An-Nisa: 56)*

Tafsir Ibnu Katsir (2009) mengungkapkan cerita yang diriwayatkan dari Ibnu Umar, tentang Umar bin Khathab dan seseorang yang membacakan ayat ini di hadapannya. Ketika orang itu membaca *kullamaa nadhijat juluuduhum, baddalnaahum juluudan ghairahaa* (setiap kali kulit mereka hangus, Kami ganti dengan kulit yang lain), Umar berkata, "Ulangi bacaan itu untukku," orang itu pun

mengulangi bacaan pada ayat tersebut. Dalam kitab Tafsir Al-Maraghi “*setiap kali kulit mereka terbakar hangus, Kami ganti kulit mereka dengan kulit yang lain agar mereka dapat merasakan pedihnya adzab*” dalam ayat ini disebutkan kulit dikaitkan dengan rasa nyeri “*merasakan pedihnya adzab*”. Nyeri didefinisikan sebagai sensor (rasa indrawi) dan pengalaman yang tidak menyenangkan akibat adanya kerusakan jaringan (Mushthofa, 1987).

Selain itu kitosan yang digunakan sebagai obat untuk penyembuhan luka bakar harus sesuai dengan kadar dan ukurannya . Hal ini dijelaskan oleh firman Allah SWT dalam QS. Al-Furqan ayat 2 yang berbunyi:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ  
فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

*Artinya: yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan (Nya), dan Dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan seserapi-rapinya (25: 2).*

Berdasarkan ayat tersebut, Allah SWT telah menetapkan segala sesuatu ukuran dengan serapi-rapinya untuk dimanfaatkan oleh manusia. Seperti halnya penentuan konsentrasi kitosan yang tepat dalam sediaan gel yang diharapkan sediaan gel kitosan memiliki kemampuan untuk mempercepat penyembuhan luka bakar derajat IIA secara efektif.

Telah dilakukan penelitian oleh Aditya (2012) tentang pengaruh kitosan dalam sediaan salep terhadap kecepatan penyembuhan luka bakar. Dari hasil

percobaan tersebut salep kitosan 2,5% dapat mempercepat waktu penyembuhan dan meningkatkan presentase penyembuhan luka bakar kimia, dibandingkan dengan salep kitosan konsentrasi 1,25% dan 5%. Atas dasar uraian di atas, penelitian kitosan sebagai salah satu bahan obat yang efektif untuk menyembuhkan luka bakar perlu dikembangkan. Pengembangan ini dilakukan dengan memformulasikan sediaan gel dengan memvariasikan konsentrasi kitosan dan pemilihan *gelling agent* sehingga bisa mempengaruhi kecepatan penyembuhan pada luka bakar derajat IIA pada punggung tikus.

### 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh optimasi *gelling agent* HPMC terhadap mutu fisik (organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar dan viskositas) gel kitosan?
2. Bagaimana pengaruh konsentrasi kitosan terhadap mutu fisik (organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, viskositas dan stabilitas) gel?
3. Berapa konsentrasi optimum kitosan dari 3 variasi konsentrasi (1,25%, 2,5%, 3,75%) dalam formula gel yang dapat mempengaruhi kecepatan proses penyembuhan luka bakar derajat IIA pada punggung tikus

### 1.3 Tujuan Penelitian

1. Memperoleh optimasi *gelling agent* HPMC yang optimum untuk membentuk sediaan gel kitosan dengan sifat fisik yang baik.
2. Memperoleh konsentrasi kitosan untuk membentuk sediaan gel dengan sifat fisik yang baik.

3. Mengetahui konsentrasi optimum kitosan dari 3 variasi konsentrasi (1,25%, 2,5% dan 3,75%) dalam formula gel yang dapat mempengaruhi kecepatan proses penyembuhan luka bakar derajat IIA pada punggung tikus.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

##### **A. Manfaat Akademik**

1. Dapat melakukan pengembangan ilmu formulasi gel kitosan yang memiliki efek terhadap kecepatan penyembuhan luka bakar.
2. Sebagai sarana aplikasi dan penerapan disiplin ilmu dalam bidang farmasetika khususnya dalam alternatif pembuatan formula berbasis limbah hewan.

##### **B. Manfaat Praktis**

Mendapatkan alternatif pilihan pengobatan luka bakar yang efektif dan aman dengan berbasis kitosan.

#### **1.5 Batasan Masalah**

1. Mutu fisik gel meliputi stabilitas suhu, pH, organoleptis, daya sebar, homogenitas, dan viskositas.
2. Luka bakar derajat IIA ditandai dengan adanya bulae (lapisan epidermis yang terlepas dari dasarnya), adanya lepuhan (blister), kulit kemerahan, bengkak dan terlihat gelembung pada kulit yang berisi cairan.
3. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar dengan jenis kelamin jantan, usia 2 - 2,5 bulan dan dengan berat badan 150-250 gram.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Hewan dalam Perspektif Islam

Allah menciptakan alam dan isinya seperti hewan dan tumbuhan mempunyai hikmah yang benar, semuanya tidak ada yang sia-sia dalam ciptaanNya. Manusia diberikan kesempatan yang seluas-luasnya untuk mengambil manfaat dari hewan dan tumbuhan (Ahmad, 2006). Allah SWT berfirman dalam al-Quran surat Al-Imran [3] : 190-191 ;

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ  
 اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا  
 سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

*Artinya: “Sesungguhnya, dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang, terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk, atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia; Mahasuci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka.” (QS. Ali-‘Imran: 190-191).*

Surat Al-Imron (3): 190-191 menjelaskan bahwa betapa besar kekuasaan Allah SWT. Dalam penciptaan langit dan bumi terdapat banyak sekali pelajaran

yang dapat diperoleh manakala manusia mau menggunakan akalnyanya. Perhatikanlah tentang penciptaan bumi dan segenap isinya, juga terdapat banyak sekali pelajaran yang bermanfaat bagi umat manusia asalkan manusia mau menggunakan akal untuk mencari jawabannya. Usaha manusia untuk mencari jawaban atas penciptaan langit dan bumi merupakan awal mula timbulnya tradisi penelitian atau pengamatan terhadap alam sekitarnya yang pada akhirnya akan menjadi ilmu-ilmu yang sangat diperlukan oleh umat manusia. Allah menciptakan langit dan bumi beserta isinya tentulah tidak sia-sia pasti ada maksud yang baik untuk manusia (Jabir, 2007). Manusia dianjurkan memikirkan tentang keberadaan dan penciptaan keindahan langit dan bumi karena dalam setiap penciptaan-Nya terdapat hikmah tersendiri (Jabir, 2007).

## 2.2 Kitosan

Kitosan pertama kali ditemukan pada 1811 oleh Henry Braconnot, seorang ahli kimia dan farmasi dari Prancis. Braconnot melihat bahwa substansi tertentu (kitin) yang ditemukan pada jamur tidak dapat larut dalam sulfur (Dai *et al.*, 2011). Kitosan adalah produk dari kitin dan salah satu dari polisakarida yang melimpah di alam. Disamping diketahui sebagai biopolimer, kitosan juga memiliki berat molekul yang tinggi dan merupakan komponen utama serangga dan *crusthacea*. Kitosan adalah material yang sesuai untuk penyembuhan luka dikarenakan kitin memiliki aktivitas anti-infunksional dan percepatan penyembuhan luka (Simbun, 2010).

Tafsir Azhar menyebutkan bahwa dalam Q.S Al-Hijr ayat 20 Allah SWT menjadikan di bumi sumber rezeki dan kehidupan bagi manusia dan binatang, dari biji-bijian, buah-buahan, sayur-sayuran, dan berbagai macam mineral tambang. Dia-lah yang memberi rezeki dan menjamin makanan setiap makhluk.

وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعَايِشَ وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرَازِقِينَ

*Artinya: “Dan kami telah menjadikan untukmu di bumi keperluan-keperluan hidup, dan (Kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kamu sekali-sekali bukan pemberi rezki kepadanya” (Q.S Al-Hijr:20).*

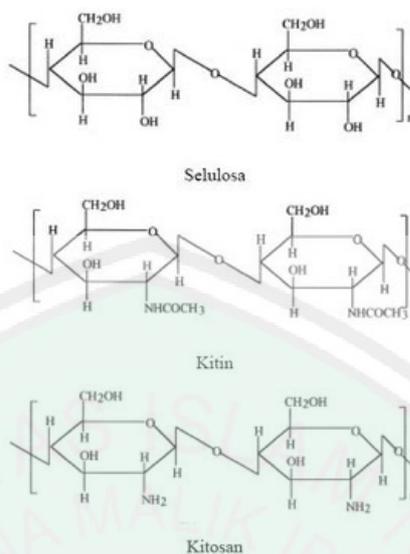
Tidak ada makhluk di dunia ini yang diciptakan tanpa ada manfaat untuk umat manusia meskipun makhluk tersebut bukanlah makhluk yang dapat memberi manfaat, seperti halnya cangkang udang-udangan. Cangkang udang-udangan yang sering menjadi limbah ternyata bermanfaat untuk umat manusia.

Kitosan merupakan senyawa kimia yang berasal dari bahan hayati kitin, suatu senyawa organik yang melimpah di alam ini setelah selulosa. Kitin umumnya diperoleh dari kerangka hewan invertebrata dari kelompok *Arthropoda sp*, *Molusca sp*, *Coelenterata sp*, *Annelida sp*, *Nematoda sp*, dan berbagai dari kelompok jamur. Selain dari kerangka hewan invertebrata, juga banyak ditemukan pada bagian insang ikan, *thachea*, dinding usus, dan pada kulit cumi-cumi. Sebagai sumber utamanya ialah cangkang *Crustacea sp*, yaitu udang, lobster, kepiting dan hewan yang bercangkang lainnya, terutama asal laut. Sumber ini diutamakan karena bertujuan untuk memberdayakan limbah udang (Purwatiningsih, 1992).

### 2.2.1 Sifat-sifat Kitosan

Kitosan adalah suatu rantai kimia semi-crystalline polysaccharide yang terdiri dari unit (1→4)-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucan (N-acetyl D-glucosamine) dan (1→4)-2-amino-2-deoxy-β-D-glucan (D-glucosamine). Dalam cangkang *crustacea*, kitin terdapat sebagai mukopolisakarida yang berikatan dengan garam-garam anorganik, terutama kalsium karbonat (CaCO<sub>3</sub>), protein dan lipida termasuk pigmen-pigmen. Oleh karena itu, untuk memperoleh kitin dari cangkang *crustacea* melibatkan proses pemisahan protein (deproteinasi) dan pemisahan mineral (demineralisasi). Sedangkan untuk mendapatkan kitosan dilanjutkan dengan proses deasetilasi. Saat terjadi deasetilasi kitin mencapai 50% (bergantung kepada asal polimer), kitin menjadi larut dalam media asam cair dan dapat disebut kitosan (Rinaudo, 2006). Pelarutan terjadi karena protonasi dari fungsi NH<sub>2</sub> dalam posisi C-2 dari unit yang berulang dalam D-glucosamin, dimana polisakarida berubah menjadi polielektrolit pada media asam (Rinaudo, 2006). Kitosan dapat dimanfaatkan di berbagai bidang biomedik, pangan, bioteknologi, pertanian, kosmetik dan lain sebagainya (Aranaz *et al.*, 2009).

Dimensi dari rantai kitosan dan volume hidrodinamika yang berhubungan serta kontribusi viskometrik bergantung pada karakter semi rigid dari rantai polisakarida. Sejak kitosan pada media asam menjadi polielektrolit, properti yang dimiliki dipengaruhi oleh konsentrasi ion (Rinaudo, 2006).



**Gambar 2.1 Struktur Selulosa, Kitin, Kitosan (Kumar, 2000)**

Kitosan merupakan padatan amorf yang berwarna putih kekuningan. Kelarutan kitosan yang paling baik ialah dalam larutan asam asetat 2%. (Sugita, 2009). Kitosan mudah mengalami degradasi secara biologis dan tidak beracun, kationik kuat, flokulan dan koagulan yang baik, mudah membentuk membran atau film serta membentuk gel dengan anion bervalensi ganda. Kitosan tidak larut dalam air, pelarut-pelarut organik, alkali atau asam-asam mineral pada pH diatas 6,5. Kitosan larut dengan cepat dalam asam organik seperti asam formiat, asam sitrat dan asam asetat (Wijayanti, 2012).

Kitosan juga sedikit larut dalam HCl dan HNO<sub>3</sub> 0,5%, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Sedangkan dalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> tidak larut. Kitosan juga tidak larut dalam beberapa pelarut organik seperti alkohol, aseton, dimetil formida dan dimetil sulfoksida tetapi kitosan larut dengan baik dengan asam formiat berkonsentrasi (0,2-100)% dalam air (Sugita, 2007). Sifat-sifat kitosan dihubungkan dengan adanya gugus amino dan hidoksil yang terikat. Adanya reaktifitas kimia yang tinggi dan menyumbangkan sifat sifat

polielektrolit kation, sehingga dapat berperan sebagai amino pengganti. Perbedaan kandungan amida adalah sebagai patokan untuk menentukan apakah polimer ini dalam bentuk kitin atau kitosan. Kitosan mengandung gugus amida 60% sebaiknya lebih kecil dari 60% adalah kitin (Sugita, 2007).

Kitosan larut pada kebanyakan larutan asam organik pada pH sekitar 4,0, tetapi tidak larut pada pH lebih besar dari 6,5, juga tidak larut dalam pelarut air, alkohol, dan aseton. Dalam asam mineral pekat seperti HCl dan HNO<sub>3</sub>, kitosan larut pada konsentrasi 0,15- 1,1%, tetapi tidak larut pada konsentrasi 10%. Kitosan tidak larut dalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pada berbagai konsentrasi, sedangkan di dalam H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> tidak larut pada konsentrasi 1% sementara pada konsentrasi 0,1% sedikit larut. Perlu untuk kita ketahui, bahwa kelarutan kitosan dipengaruhi oleh bobot molekul, derajat deasetilasi dan rotasi spesifiknya yang beragam bergantung pada sumber dan metode isolasi serta transformasinya (Sugita, 2009).

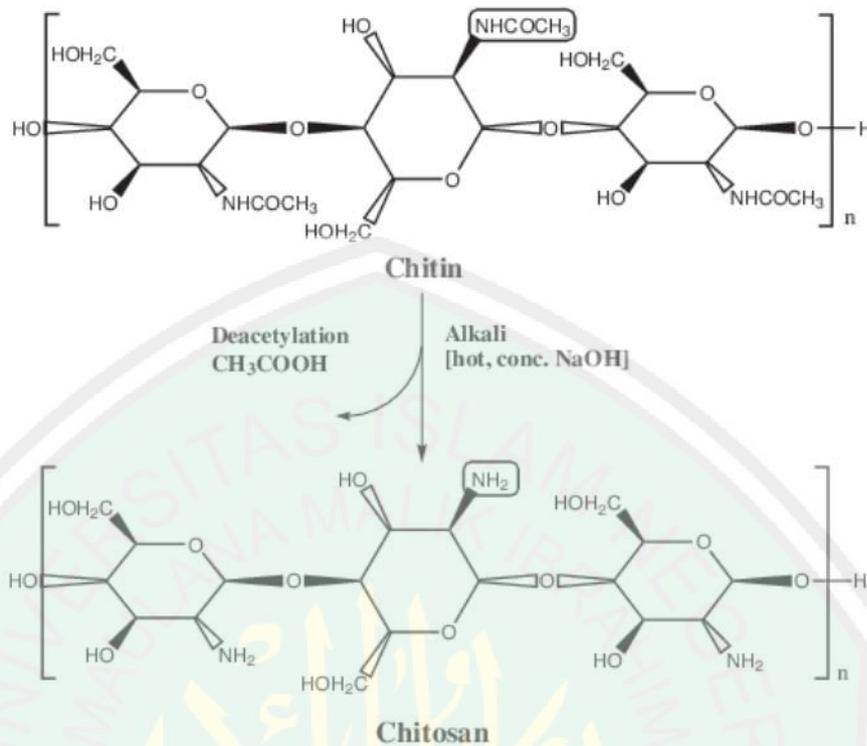
### 2.2.2 Pembuatan Kitosan

Cangkang udang mengandung senyawa kimia yang disebut kitin dengan rumus molekul (C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub>)<sub>n</sub>, kitin diperoleh melalui proses deproteinasi dan demineralisasi. Penghilang protein pada proses deproteinasi bertujuan untuk menghilangkan protein yang terikat dalam matriks kulit (Sugita *et al.*, 2009). Di dalam kerangka luar hewan bercangkang mengandung kitin yang berikatan langsung dengan kalsium karbonat (CaCO<sub>3</sub>) dan protein. Protein yang terikat di dalam cangkang bisa mencapai kisaran 30-40% dari senyawa organik totalnya, tergantung pada jenis spesiesnya (Cho *et al.*, 1998). Deproteinasi merupakan reaksi hidrolisis pada kitin dalam suasana basa dengan menggunakan larutan

NaOH 5% pada suhu kamar selama semalam atau suhu 90°C selama 1 jam, dan hasil deproteinasi kemudian dinetralkan menggunakan aquades (Shaji *et al.*, 2010).

Setelah deproteinasi, selanjutnya dilakukan tahap demineralisasi yaitu menghilangkan mineral atau senyawa anorganik yang ada pada limbah cangkang udang. Mineral utama paling banyak pada cangkang udang adalah  $\text{CaCO}_3$  dan kalsium fosfat  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  (Priyambodo, 2009). Proses demineralisasi dilakukan dengan menambahkan HCl 1N dengan perbandingan bobot bahan dan volume pengestrak 1:7 (b/v) dan dipanaskan pada suhu 90°C selama 1 jam (Suptijah, 2004).

Proses pembuatan kitosan dari kitin disebut tahap deasetilasi dimana pada tahap ini gugus asetil pada kitin dihilangkan melalui reaksi hidrolisis dengan menggunakan basa kuat NaOH 50% pada suhu 120°C selama 5 jam lalu endapan yang terbentuk dicuci dengan aquades netral (Muzzarelli dan Rochetti, 1985). Waktu deasetilasi yang panjang dengan suhu yang tinggi akan menyebabkan terjadinya penurunan rendemen (Sugita, 2009).



**Gambar 2.2** Reaksi Transformasi Kitin Menjadi Kitosan ( Kaur, 2013)

### 2.2.3 Derajat Deasetilasi

Derajat deasetilasi merupakan parameter mutu kitosan yang menunjukkan persentase gugus asetil ( $\text{CH}_3\text{-CO}$ ) yang dapat dihilangkan dari rendemen kitin maupun kitosan. Semakin tinggi derajat deasetilasi kitosan, maka gugus asetil kitosan semakin rendah sehingga interaksi antar ion dan ikatan hidrogennya akan semakin kuat (Knoor, 1982). Pelepasan gugus asetil dari kitosan menyebabkan kitosan bermuatan positif yang mampu mengikat senyawa negatif, seperti protein, anion polisakarida membentuk ion netral dimana molekul tersebut dapat larut dalam asam yang menghasilkan gugus amina bebas ( $-\text{NH}_2$ ) (Rochima, 2007).

#### 2.2.4 Peran Kitosan dalam Penyembuhan Luka

Fase awal penyembuhan luka ialah fase inflamasi. Pada fase ini terjadi masuknya neutrofil, makrofag, dan limfosit ke daerah luka. Neutrofil merupakan sel yang pertama menuju daerah luka, mencapai secara massal dalam 24 jam pertama. Neutrofil segera diikuti oleh makrofag yang dimana akan terpicu oleh apoptosis neutrofil (Gantwerker and Hom, 2012). Mekanisme peradangan menghasilkan respon yang menetralkan dan menginflamasi antigen seperti bakteri, benda asing atau sel mati. Selanjutnya adalah fase proliferasi dimana terjadi pembentukan jaringan granulasi yang diperankan oleh fibroblas. Pada fase ini terjadi pengkerutan luka dan epitelisasi hingga menutup seluruh permukaan luka yang berlangsung selama 4 hari – 4 minggu (Kumar *et al.*, 2005). Pada minggu pertama fibroblast dihasilkan oleh derivat makrofag yaitu sitokin TGF- $\beta$ 1, PDGF dan fibroblast growth factor (FGF) untuk memproliferasi dan mensintesa glikosaminoglikan, proteoglikan dan kolagen yang berfungsi untuk merekonstruksi jaringan.

Menurut Sezer *et al* (2007), epitel yang lebih tipis memiliki proses penyembuhan luka yang lebih baik. Peningkatan ketebalan epitel mencapai puncaknya di hari ke-14 disebabkan oleh fibroblas yang banyak bermigrasi pada area luka khususnya di hari ke 7-14 dan perlekatan antara kolagen-fibroblas di epitel luka. Proses tersebut menyebabkan epitel semakin menebal agar lebih kuat dalam mengkerutkan dan menutup luka bersama-sama dengan fibroblas-kolagen. Fibroblas mulai meninggalkan area luka bersamaan dengan proses reepitelisasi yang terbentuk sempurna dan aktivasi kolagen yang memulai fase maturasi.

Hewan percobaan yang diberi kitosan memiliki resolusi neovaskularisasi yang lebih memadai, induksi fibroblas yang lebih cepat, dan serat kolagen yang lebih banyak (Chiba *et al.*, 2006). Kitosan dapat mempercepat proses penyembuhan luka dengan cara mempercepat migrasi dari sel-sel inflamasi dan meningkatkan fase granulasi dalam penyembuhan luka. Selain itu, struktur dari kitosan yaitu GicNAc juga mampu meningkatkan aktivasi makrofag (Ueno, 2001). Hal ini didukung dengan penelitian yang menyatakan bahwa kitosan memiliki kemampuan untuk meningkatkan paruh waktu *Basic Fibroblast Growth Factor* dibandingkan kelompok kontrol dengan cara melindunginya agar tidak terdegradasi oleh panas atau enzim-enzim yang mungkin merusaknya. *Basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF) atau disebut juga FGF-2 adalah salah satu prototipe *Fibroblast Growth Factor* (FGF) yang memiliki pengaruh amat besar terhadap perkembangan jaringan granulasi, proliferasi fibroblas dan angiogenesis (Masuoka *et al.*, 2005).

Kitosan merupakan polimer yang tersusun dari kopolimer dari glukosamin (D-GlcN) dan N-asetilglukosamin (D-GlcNA). Kitosan memiliki kemampuan memodulasi fungsi dari sel-sel inflamasi seperti sel limfosit serta mendukung proses granulasi dan organisasi luka. Berat molekul merupakan salah satu karakteristik utama pada kitosan yang mempengaruhi proses penyembuhan luka. Peran awal kitosan dalam proses penyembuhan luka bakar adalah sifatnya yang hemostatik. Kitosan akan melepas *N-acetyl-b-D-glucosamine* yang menginisiasi proliferasi fibroblast, membantu mengatur deposisi kolagendan menstimulasi peningkatan level dari sintesis asam hialuronik alami pada luka. Ini

membantu mempercepat penyembuhan luka dan mencegah bekas luka. Pada fase awal proses penyembuhan luka, makrofag mengeluarkan kolagenase dan elastase yang memproduksi kolagen dan melepaskan sitokin. Sifat kation kitosan adalah linier polielektrolit, bermuatan positif. Kitosan yang bermuatan positif memiliki kemampuan untuk mengikat membran darah merah yang bermuatan negatif sehingga dengan cepat dapat terbentuk *blood clot* pada fase hemostasis dan mempercepat proses penyembuhan luka (Aranaz *et al.*, 2009).

Gugus amina (-NH<sub>2</sub>) dan hidroksil (-OH) pada rantai kitosan, menyebabkan kitosan bersifat polielektrolit kationik (pK<sub>a</sub> = 6,5) dan bersifat sebagai basa sehingga dapat merekonstruksi jaringan pada kulit (Rimana, 2001).

Mekanisme penyembuhan luka dapat dipercepat oleh kitin dan kitosan dengan memacu aktivitas dan akumulasi sel PMN. Hal ini terjadi karena aktivasi komplemen melalui *alternative pathway* atau jalur alternatif. Pada jalur ini, sejumlah tinggi *anaphylatoxins* (C3a dan C5a) akan diproduksi dan mengaktifasi PMN, sel *mononuclear* (MN), dan endotelium. Migrasi PMN dan MN terjadi segera setelah pemberian kitosan atau kitin pada luka. PMN, MN diaktifkan menurunkan kitin dan kitosan untuk membentuk oligomer dan monomer. Komponen-komponen berat molekul rendah tidak lagi mengaktifkan komplemen, namun memiliki kemampuan yang kuat untuk mempromosikan migrasi sel dari polimer asli (Minami, 1997).

Kitosan dan derivatnya menginduksi apoptosis pada peritoneal makrofag setelah pemberian *low-molecular soluble chitosan*. Kitosan adalah makrofag aktivator yang memediasi fagositosis dan mempercepat penyembuhan luka (Mori,

1998). Kitosan juga mampu menstimulasi proliferasi sel (reepitelisasi) dan penyedia matriks non protein untuk pertumbuhan jaringan. Ketika fase proliferasi seluler yaitu fase terbentuknya granulasi jaringan baru dengan memproduksi kolagen dan protein matriks ekstraseluler yang lain, serta meningkatkan vaskularisasi ke luka untuk memberikan nutrisi yang dibutuhkan oleh sintesis protein. Kitosan menyediakan matrik non protein untuk pertumbuhan jaringan 3D dan mengaktifasi makrofag untuk aktifitas tumorisidal. Kitosan menstimulasi proliferasi sel dan mengorganisasi jaringan *histoarchitectural*. Eitelisasi merupakan pembentukan epitelium diatas permukaan kulit, epitelisasi dari luka melibatkan migrasi sel di pinggir luka dalam jarak kurang dari satu milimeter, luka diepitelisasi lebih dari 48 jam setelah terjadi luka (Jinab, 2006).

## **2.3 Kulit**

### **2.3.1 Definisi**

Kulit adalah lapisan atau jaringan yang menutupi seluruh tubuh dan melindungi tubuh dari bahaya yang datang dari luar. Kulit merupakan salah satu organ tubuh terbesar dimana kulit membentuk 15% dari berat badan keseluruhan (Gibson, 2002). Kulit juga sangat kompleks, elastis dan sensitive, bervariasi pada keadaan iklim, umur, jenis kelamin, ras, dan juga bergantung pada lokasi tubuh (Derrickson, 2009).

### **2.3.2 Struktur Kulit**

Secara mikroskopis, kulit terdiri 3 lapisan yaitu lapisan epidermis, dermis hipodermis.

### 2.3.2.1 Epidermis

Epidermis adalah bagian terluar kulit dan merupakan lapisan epitel yang berasal dari ektoderm. Terdiri dari epitel berlapis gepeng bertanduk, mengandung sel melanosit, langerhans dan merkel. Jaringan ini tidak memiliki pembuluh darah dan sel-selnya sangat rapat. Bagian epidermis yang paling tebal dapat ditemukan pada telapak tangan dan kaki. Ketebalan epidermis pada telapak tangan berkisar 5% dari seluruh ketebalan kulit (Shier *et al.*, 2004). Pada epidermis regenerasi setiap 4-6 minggu. Fungsi epidermis yaitu sebagai proteksi barier, organisasi sel, sintesis vitamin D dan sitokin, pembelahan dan mobilisasi sel, pigmentasi (melanosit) dan pengenalan alergen oleh sel Langerhans (David, 2007).

Menurut David (2007) epidermis terdiri atas lima lapisan (dari lapisan yang paling atas sampai yang terdalam):

#### A. Stratum Korneum

Terdiri dari sel keratinosit yang bisa mengelupas dan berganti.

#### B. Stratum Lusidum

Merupakan lapisan jernih dan tembus cahaya dari sel-sel gepeng tidak bernukleus yang mati atau hampir mati dengan ketebalan empat sampai tujuh lapisan sel (Sloane, 2003). Lapisan ini berupa garis translusen, biasanya terdapat pada kulit tebal telapak kaki dan tangan. Tidak tampak pada kulit tipis (Perdanakusuma, 2007).

#### C. Stratum Granulosum

Ditandai oleh 3-5 lapis sel polygonal gepeng yang intinya ditengah dan sitoplasma terisi oleh granula basofilik kasar yang dinamakan granula

keratohialinyang merupakan prekursor pembentukan keratin. Keratin adalah protein keras dan resielin, anti-air serta melindungi permukaan kulit yang terbuka. Keratin pada lapisan epidermis merupakan keratin lunak yang berkadar sulfur rendah, berlawanan dengan keratin yang ada pada kuku dan rambut (Sloane, 2003).

#### D. Startum Spinosum

Terdapat berkas-berkas filamen yang dinamakan tonobril, filamen-filamen tersebut memegang peranan penting untuk mempertahankan hoheasi sel dan melindungi terhadap efek abrasi. Epidermis pada tempat yang terus mengalami gesekan dan tekanan mempunyai startum spinosum dengan lebih banyak tonobril. Stratum basale dan stratum spinosum disebut juga sebagai lapisan Malpigi (Perdanakusuma, 2007). Di lapisan ini terdapat sel langerhans. Sel langerhans adalah sel dendrit yang memproduksi antigen (Jaequeline, 2013).

#### E. Stratum Basalis

Merupakan lapisan tunggal sel-sel yang melekat pada jaringan ikat dari lapisan kulit dibawahnya, dermis. Pembelahan sel yang cepat berlangsung pada lapisan ini, dan sel baru didorong masuk ke lapisan berikutnya (Sloane, 2003). Pembaharuan sel terjadi setiap 28 hari untuk migrasi ke permukaan. Lapisan ini merupakan satu lapisan sel yang mengandung malanosit (Perdanakusuma, 2007).

### 2.3.2.2 Dermis

Merupakan bagian paling penting di kulit yang sering dianggap sebagai “*True Skin*”. Terdiri atas jaringan ikat yang menyokong epidermis dan menghubungkannya dengan jaringan subkutis. Tebalnya bervariasi, yang paling

tebal pada telapak kaki sekitar 3 mm (Perdanakusuma, 2007). Dermis dipisahkan dari lapisan epidermis dengan adanya membran dasar atau lamina. Dermis terdiri dari dua lapisan:

#### A. Lapisan Papilar

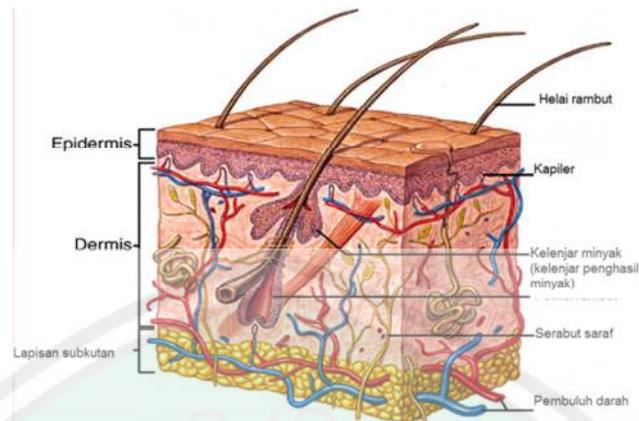
Merupakan jaringan ikat areolar renggang dengan fibroblas, sel mast, dan makrofag. Lapisan ini mengandung banyak pembuluh darah, yang memberi nutrisi pada epidermis atasnya. Papila dermal mengandung reseptor sensorik taktil dan pembuluh darah. Pada telapak tangan dan telapak kaki, jumlahnya sekitar  $10.400/\text{cm}^2$  (Sloane, 2003).

#### B. Lapisan Retikular

Terletak lebih dalam dari lapisan papilar. Lapisan ini tersusun dari jaringan ikat ireguler yang rapat, kolagen, dan serat elastik (Sloane, 2003). Pada usia lanjut kolagen saling bersilang dalam jumlah besar dan serabut elastin berkurang menyebabkan kulit terjadi kehilangan kelemasannya dan tampak mempunyai banyak keriput (Perdanakusuma, 2007).

#### 2.3.2.3 Subkutis

Merupakan lapisan di bawah dermis yang terdiri dari lapisan lemak. Lapisan ini terdapat jaringan ikat yang menghubungkan kulit secara longgar dengan jaringan di bawahnya. Lapisan subkutis berfungsi untuk menunjang suplai darah ke dermis untuk regenerasi, sebagai isolator panas, cadangan kalori, kontrol bentuk tubuh, dan sebagai *mechanical shock absorber* (Perdanakusuma, 2007).



Gambar 2.3 Struktur Kulit Normal (Moore *et al*, 2013)

## 2.4 Luka

### 2.4.1 Definisi Luka

Luka adalah suatu cedera dimana kulit robek, terpotong atau tertusuk, atau trauma benda tumpul yang menyebabkan kontusi. Luka dikategorikan dua jenis yaitu luka terbuka dan tertutup.

#### A. Luka Terbuka

Luka terbuka merupakan luka dimana kulit atau jaringan selaput lendir rusak. Cedera jaringan lunak disertai kerusakan / terputusnya jaringan kulit yaitu rusaknya kulit dan bisa disertai jaringan dibawah kulit. Kerusakan ini dapat terjadi karena suatu kesengajaan seperti pada tindakan operasi maupun ketidaksengajaan seperti luka akibat kecelakaan (traumatis). Luka terbuka diklasifikasikan berdasarkan objek penyebab luka antara lain: luka lecet (*ekskoriasi*), luka gigitan (*vulnus marsum*), luka iris/sayat (*vulnus scisum*), luka bacok (*vulnus caesum*), luka robek (*vulnus traumaticum*), luka tembak (*vulnus sclopetinum*), luka hancur (*vulnus lacerum*), dan luka bakar (*Combustio*) (Dorland, 2006).

## B. Luka Tertutup

Luka tertutup dapat diartikan sebagai cedera jaringan lunak tanpa kerusakan / terputusnya jaringan kulit, yang rusak hanya jaringan dibawah kulit. Penyebab luka ini adalah trauma benda tumpul yang tidak menyebabkan keluarnya darah. Luka tertutup dibagi menjadi tiga: kontusi, hematoma dan luka tekan (Dorland, 2006).

## 2.5 Luka Bakar

### 2.5.1 Definisi

Luka bakar (*combustio*) adalah kerusakan atau kehilangan jaringan akibat kontak dengan sumber panas seperti api, air panas, bahan kimia, listrik, dan radiasi (Moenadjat, 2009). Luka bakar adalah cedera sistemik yang kompleks mengikuti kulit yang terpapar energi panas, mengikuti cedera panas, kulit mengalami tiga urutan fase cedera: cedera fisik, cedera biokimia dan respon penolakan jaringan nekrotik (Xu, 2004).

Fase cedera fisik meliputi cedera langsung. Segera setelah permukaan kulit terpapar sumber panas, cedera langsung yang dihasilkan adalah nekrosis dari kulit yang berhubungan, dimana disebut sebagai "*direct physical thermal injury*". Meskipun sumber panas penyebab cedera langsung telah dihilangkan, panas tidak dapat hilang dengan segera dari kulit. Panas yang tersisa berlanjut menghasilkan efek panas yang kumulatif yang menyebabkan timbulnya cedera panas sekunder pada kulit. Cedera sekunder biasanya berlangsung 6-12 jam. Hal ini disebut sebagai "*indirect physical injury phase*"(Xu, 2004).

### 2.5.2 Etiologi

Penyebab luka bakar adalah kontak dengan agen termal, kimiawi, listrik dan radiasi (Betz, 2009).

#### A. Termal

Luka bakar dapat disebabkan oleh agen termal kering maupun lembab. Agen termal kering yaitu api dan logam panas, sedangkan agen termal lembab yaitu cairan atau gas panas (Grace and Borley, 2007).

#### B. Kimiawi

Luka bakar kimiawi berasal dari kontak dengan asam, basa dan muatan organik. Zat tersebut dapat menyebabkan perubahan fisik yakni area tubuh terbakar. Luka bakar ini biasanya terjadi pada kecelakaan industri (Muscari, 2005; Grace and Borley, 2007).

#### C. Listrik

Luka bakar listrik dapat disebabkan oleh kabel listrik korsleting atau ketika memasukkan objek konduktor ke dalam saluran listrik. Trauma listrik serius berasal dari aliran arus listrik yang melewati jalur organ, otot, dan saraf atau vaskular (Muscari, 2005).

#### D. Radiasi

Luka bakar radiasi disebabkan terpapar sinar matahari dan terapi medis. Awalnya radiasi menyebabkan luka bakar dengan kedalaman sebagian tapi dapat berlanjut ke trauma yang lebih dalam (Muscari, 2005; Grace and Borley, 2007).

### 2.5.3 Patofisiologi

Luka bakar disebabkan oleh pengalihan energi dari suatu sumber panas ke tubuh. Panas tersebut dipindah lewat hantaran atau radiasi elektromagnetik. Suhu kurang dari 44°C dapat ditoleransi pada periode waktu yang sama tanpa menyebabkan luka bakar. Dalamnya luka bakar tergantung pada suhu dan lamanya kontak dengan penyebab luka bakar. Kontak dengan air panas bersuhu 68,9°C selama 1 detik dapat menyebabkan luka bakar yang merusak epidermis dan dermis sehingga terjadi luka bakar derajat III. Paparan air panas bersuhu 56,1°C selama 15 detik dapat mengakibatkan luka bakar derajat III yang serupa (Smeltzer and Bare, 2010).

Saraf dan pembuluh darah merupakan struktur yang kurang tahan dengan kondisi panas. Kerusakan pembuluh darah ini mengakibatkan cairan intravaskular keluar dari lumen pembuluh darah, dalam hal ini bukan hanya cairan tetapi protein plasma dan elektrolit. Pada luka bakar dengan perubahan permeabilitas yang hampir menyeluruh, penimbunan jaringan masif di intersitial menyebabkan kondisi hipopolemik. Volume cairan intravaskular mengalami defisit, timbul ketidakmampuan menyelenggarakan proses transportasi ke jaringan, kondisi ini dikenal dengan syok (Moenadjat, 2011).

Luka bakar juga dapat menyebabkan kematian yang disebabkan oleh kegagalan organ multi sistem. Awal mula terjadi kegagalan organ multi sistem yaitu terjadinya kerusakan kulit yang mengakibatkan peningkatan pembuluh darah kapiler, peningkatan ekstrasfasasi cairan (H<sub>2</sub>O, elektrolit dan protein), sehingga mengakibatkan tekanan osmotik dan tekanan cairan intraseluler menurun, apabila

hal ini terjadi terus menerus dapat mengakibatkan hipopolemik dan hemokonsentrasi yang mengakibatkan terjadinya gangguan perfusi jaringan. Apabila sudah terjadi gangguan perkusi maka akan mengakibatkan gangguan sirkulasi makro yang menyuplai sirkulasi organ-organ penting seperti : otak, kardiovaskuler, hepar, traktus gastrointestinal dan neurologi yang dapat mengakibatkan kegagalan organ multi sistem (Moenadjat, 2011).

#### **2.5.4 Zona Kerusakan Jaringan**

##### **2.5.4.1 Zona Koagulasi**

Merupakan daerah yang mengalami kontak langsung. Kerusakan jaringan berupa koagulasi (denaturasi) protein akibat pengaruh trauma termis. Jaringan ini bersifat non vital dan dapat dipastikan mengalami nekrosis beberapa saat setelah kontak, disebut juga dengan jaringan nekrosis (Moenadjat, 2011)

##### **2.5.4.2 Zona Statis**

Daerah diluar atau disekitar dan langsung berhubungan dengan zona koagulasi. Kerusakan yang terjadi pada zona ini terjadi akibat perubahan endotel pembuluh darah, trombosit, leukosit yang diikuti perubahan permeabilitas kapiler, trombotik, dan respon inflamasi lokal. Mengakibatkan terjadinya gangguan perfusi (*no flow phenomena*). Proses tersebut biasanya berlangsung dalam dua belas sampai dua puluh empat jam pasca trauma, mungkin berakhir dengan nekrosis jaringan (Moenadjat, 2011).

##### **2.5.4.3 Zona Hiperemia**

Merupakan daerah di luar zona statis, terjadi reaksi berupa vasodilatasi tanpa banyak melibatkan reaksi sel dalam zona ini. Tergantung keadaan umum

dan terapi yang diberikan. Zona hiperemia dapat mengalami penyembuhan spontan atau berubah menjadi zona kedua bahkan zona pertama (perubahan derajat luka yang menunjukkan perburukan disebut degradasi luka) (Moenadjat, 2011).

Ketiga area tersebut membentuk tiga dimensi, maka apabila terjadi kehilangan jaringan pada zona statis maka luas akan semakin dalam dan luas. Jika tidak ada cedera sekunder, maka tiga zona tersebut akan tetap ada pada proses natural (Xu, 2000).

#### **2.5.5 Luas Luka Bakar**

Luas luka bakar yang mengenai permukaan kulit akan mempengaruhi metabolisme. Pada luka bakar yang mengenai tubuh kurang dari 30%, perpindahan cairan sebatas pada area yang terkena luka bakar. Jaringan yang terbakar melepaskan mediator koloid dan kristaloid berpindah ke dalam ruang interstisiel. Peningkatan permeabilitas kapiler terutama terjadi 8-12 jam pasca luka bakar. Apabila luka bakar mengenai tubuh lebih dari 30% perpindahan cairan tidak hanya mengenai area yang terkena luka bakar, tetapi juga mengenai jaringan yang tidak terpapar luka bakar (Horne and Swearingen, 2000).

Edema yang berkembang pada jaringan yang tidak terbakar disebabkan karena hiponatremi yang terjadi pada jaringan yang terkena luka bakar. Jaringan yang terkena luka bakar kehilangan protein dan luasnya berkurang oleh kerja substansi vasoaktif yang bersikulari. Cedera panas dapat menurunkan potensial membran sel, menyebabkan air dan natrium masuk ke dalam sel, dan akhirnya menyebabkan pembengkakan sel. Kehilangan kulit akibat terbakar juga

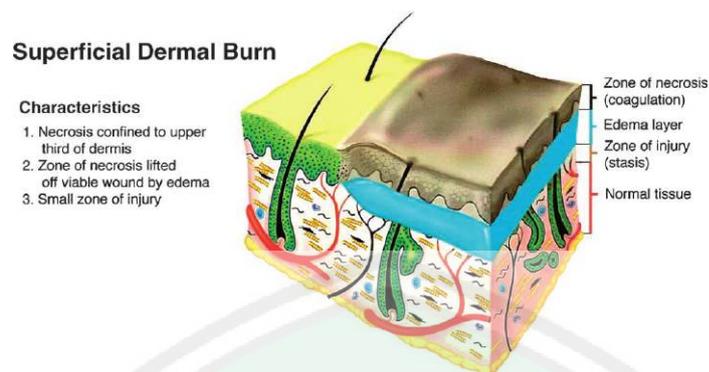
menyebabkan tubuh kehilangan panas dan kehilangan cairan. Asidosis metabolik terjadi akibat penurunan perfusi jaringan (Horne and Swearingen, 2000).

### **2.5.6 Klasifikasi Luka Bakar**

Semakin dalam luka bakar, semakin sedikit appendises kulit yang berkontribusi pada proses penyembuhan dan semakin memperpanjang masa penyembuhan luka. Semakin panjang masa penyembuhan luka, semakin sedikit dermis yang tersisa, semakin besar respon inflamasi yang terjadi dan akan semakin memperparah terjadinya *scar*. Luka bakar yang sembuh dalam waktu 3 minggu biasanya tanpa menimbulkan *hypertrophic scarring*, walaupun biasanya terjadi perubahan pigmen dalam waktu yang lama. Sebaliknya luka bakar yang sembuh lebih dari 3 minggu sering mengakibatkan *hyperthrophic scars* (Schwartz, *et al.*, 2000).

#### **2.5.6.1 Luka Bakar Derajat I**

Kerusakan hanya sebatas superfisial epidermis ditandai dengan nyeri karena ujung syaraf sensorik teriritasi, kulit kering, hiperemik memberikan efloresensi berupa eritema. Tidak dijumpai bula atau lepuh. Kulit sembuh spontan dalam 5-10 hari dan tidak meninggalkan jaringan parut. Biasanya tidak menimbulkan komplikasi. Derajat kerusakan yang ditimbulkan bukan termasuk masalah klinik yang berarti dalam kajian teraupetik, sehingga luka bakar derajat I tidak dicantumkan dalam perhitungan luas luka bakar. Contohnya luka bakar akibat sengatan sinar matahari (Moenadjat, 2009).



**Gambar 2.4 Luka Bakar Derajat I (Demling and DeSanti, 2006)**



**Gambar 2.5 Area Luka Bakar Derajat 1 (Moore et al, 2013)**

### 2.5.6.2 Luka Bakar Derajat II

Kerusakan epidermis dan sebagian dermis, berupa reaksi inflamasi akut disertai proses eksudasi dan dijumpai bula. Dasar luka berwarna merah atau pucat, sering terletak lebih tinggi di atas permukaan kulit normal. Terdapat nyeri karena ujung-ujung saraf sensorik teriritasi. Luka bakar derajat II dibedakan menjadi dua:

A. Derajat II dangkal (*superficial partial thickness burn* atau derajat IIA)

- Kerusakan mengenai bagian superfisial dan dermis.
- Apendise kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebacea masih utuh.

- Bula mungkin tidak terbentuk beberapa jam setelah cedera, dan luka bakar pada mulanya tampak seperti luka bakar derajat satu dan mungkin terdiagnosa sebagai derajat dua superfisial setelah 12 sampai 24 jam.
- Ketika bula dihilangkan, luka bewarna merah muda dan basah.
- Jaringan menyebabkan *hypertrophic/scar*.
- Jika infeksi dicegah maka penyembuhan akan terjadi secara spontan kurang dari 3 minggu.



**Gambar 2.6 Area Luka Bakar Derajat II**

**Mid-Dermal Burn**

**Characteristics**

1. Necrosis to mid-dermis
2. Large zone of injury (potential conversion)
3. Eschar separated from viable tissue by edema layer

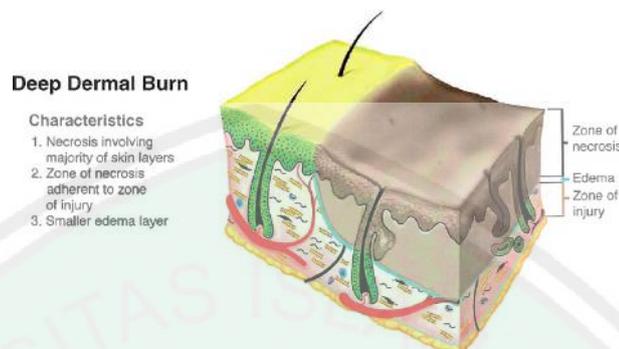


**Gambar 2.7 Luka Bakar Derajat II Dangkal (Demling and DeSanti, 2006)**

**B. Derajat II dalam (*deep partial thickness burn* atau derajat IIB)**

Kerusakan mengenai hampir seluruh bagian dermis. Apendises kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebacea sebagian masih utuh. Penyembuhan terjadi lebih lama, tergantung apendises kulit yang tersisa.

Biasanya penyembuhan terjadi dalam waktu lebih dari satu bulan (Moenadjat, 2009).



**Gambar 2.8 Luka Bakar Derajat II Dalam (Demling and DeSanti, 2006)**

### 2.5.6.3 Luka Bakar Derajat III

Sering disebut *full-thickness* burn, kerusakan meliputi seluruh ketebalan dermis dan sebagian lapisan lebih dalam. Apendises kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebacea mengalami kerusakan. Pada derajat ini tidak dijumpai bula. Kilit yang terbakar bewarna abu-abu dan pucat, kering, dan letaknya lebih rendah dibandingkan kulit sekitar akibat koagulasi protein pada lapisan epidermis dan dermis (disebut eskar).

Pada derajat ini tidak dijumpai nyeri, bahkan hilang sensasi karena ujung-ujung saraf serabut saraf sensorik mengalami kerusakan atau kematian. Penyembuhan terjadi lama karena tidak ada proses epitelisasi spontan baik dari dasar luka, tepi luka maupun apendises kulit (Moenadjat, 2009).



**Gambar 2.9 Luka Bakar Derajat III (Demling and DeSanti, 2006)**



**Gambar 2.10 Area Luka Bakar Derajat III (Moore *et al*, 2013)**

### 2.5.7 Proses Penyembuhan Luka

Berdasarkan klasifikasi lama penyembuhan bisa dibedakan menjadi dua yaitu: akut dan kronis. Luka dikatakan akut jika penyembuhan yang terjadi dalam jangka waktu 2-3 minggu. Sedangkan luka kronis adalah segala jenis luka yang tidak ada tanda untuk sembuh dalam jangka waktu 4-6 minggu (Potter and Perry, 2005).

Pada dasarnya proses penyembuhan luka sama untuk setiap cedera jaringan lunak. Begitu juga halnya dengan kriteria sembuhnya luka pada tiap cedera luka baik luka ulseratif kronik, seperti dekubitus dan ulkus tungkai, luka traumatis, misalnya laserasi dan luka bakar, atau luka akibat tindakan bedah. Luka dikatakan mengalami proses penyembuhan jika mengalami proses fase respon inflamasi

akut terhadap cedera, fase proliferasi, dan fase maturasi. Kemudian disertai dengan berkurangnya luasnya luka, jumlah eksudat berkurang, jaringan luka semakin membaik.

Tubuh secara normal akan merespon terhadap luka melalui proses peradangan yang dikarakteristikkan dengan lima tanda utama yaitu bengkak, kemerahan, panas, nyeri dan kerusakan fungsi, proses penyembuhannya mencakup beberapa fase (Potter and Perry, 2005).

#### **2.5.7.1 Fase Inflamasi**

Inflamasi merupakan reaksi awal bila tubuh terkena luka (Li *et al.*, 2007). Fase ini terjadi segera setelah cedera dan dapat berlangsung sampai 4-6 hari (Broughton *et al.*, 2006). Reaksi awal adalah terjadinya vasodilatasi lokal, keluarnya darah dan cairan menuju ruangan ekstrasvaskuler, dan terhambatnya aliran limfatik. Semua ini mengakibatkan timbulnya tanda-tanda utama untuk terjadinya suatu inflamasi, termasuk bengkak, merah dan panas. Respon inflamasi akut ini biasanya antara 24 - 48 jam dan dapat menetap diatas 2 minggu untuk beberapa kasus (Li *et al.*, 2007). Fase ini merupakan tahap awal yang alami untuk mengangkat jaringan debris dan mencegah infeksi yang invasif (Gurtner, 2007).

Fase ini dibagi menjadi dua yaitu respon vaskular dan respon seluler (Li *et al.*, 2007). Pada reseptor vaskular, perdarahan terjadi segera sesudah jaringan cedera sebagai akibat dari terganggunya atau rusaknya pembuluh darah. Langkah pertama dari proses penyembuhan luka adalah hemostasis. Hemostasis terdiri dari dua proses utama: pembentukan *fibrin clot* dan koagulasi. Platelet adalah sel pertama yang muncul sesudah terjadinya cedera dan mengatur hemostasis normal.

Perubahan trombin menjadi fibrinogen dan kemudian menjadi fibrin selama agregasi platelet, menyebabkan *fibrin clot* terbentuk dan menghentikan perdarahan.

Komponen ke dua dari hemostasis adalah koagulasi melalui *intrinsik* dan *ekstrinsik coagulation pathways*. Kerusakan jaringan melepaskan lipoprotein yang dikenal sebagai tissue factor. Platelet meningkatkan pembentukan jaringan baru melalui pelepasan beberapa *growth factor* kuat berpengaruh pada perbaikan luka, seperti *transforming growth factor alpha* (TGF- $\alpha$ ), *transforming growth factor beta* (TGF- $\beta$ ), dan *platelet-derived growth factor* (PDGF) (Li *et al.*, 2007)

#### 2.5.7.2 Fase Proliferasi

Pada fase ini aktivitas seluler lebih utama. Tahap-tahap utama meliputi pembentukan barrier permeabilitas (epitelisasi), kecukupan suplai darah (angiogenesis) dan pembentukan kembali jaringan dermis pada jaringan luka (fibroplasia) (Li *et al.*, 2007). Ciri-ciri fase proliferasi adalah angiogenesis, deposit kolagen, pembentukan jaringan granulasi, epitelisasi, dan kontraksi luka (Nayak *et al.*, 2007). Fase ini akan dimulai pada hari ke-3 bersamaan dengan memudarkan fase inflamasi dan terus sampai pada hari ke-14, bahkan lebih setelah luka, didominasi dengan pembentukan jaringan granulasi dan epitelisasi (Reddy *et al.*, 2012). Broughton *et al.* (2006) menyebutkan fase proliferasi dimulai segera setelah fase inflamasi yang berlangsung 4 – 6 hari.

Proses epitelisasi mengembalikan epidermis utuh seperti semula. Faktor yang terlibat adalah migrasi keratinosit pada jaringan luka, proliferasi keratinosit, diferensiasi neoepitelium menjadi epidermis yang berlapis-lapis, dan

mengembalikan *basement membranezone* (BMZ) menjadi utuh yang menghubungkan epidermis dan dermis (Li *et al.*, 2007). *Epidemal growth factor* (EGF), *keratinocyte growth factor* (KGF), dan TGF- $\alpha$  merupakan faktor penting untuk merangsang migrasi keratinosit, proliferasi, dan epitelisasi. Hari ke 7-9 sesudah epitelisasi, BMZ terbentuk. Struktur kulit pada BMZ terdiri dari banyak protein matriks ekstraseluler seperti kolagen dan laminins.

Pembentukan kembali dermis dimulai kira-kira hari ke 3-4 setelah perlukaan, dengan ciri klinik pembentukan jaringan granulasi, meliputi pembentukan pembuluh darah baru atau angiogenesis, dan penumpukan fibroblas dan fibroplasia (Li *et al.*, 2007)

Fibroplasia adalah suatu proses proliferasi fibroblas, migrasi fibrin clot ke daerah luka, dan produksi dari kolagen baru dan matriks protein lainnya, yang terlibat dalam pembentukan jaringan granulasi. Respon awal saat terjadinya luka, fibroblas di pinggir luka memulai proliferasi dan kira-kira hari ke-4 dimulai migrasi menuju matriks dari bekuan luka yang kaya kolagen, proteoglikan, dan elastin. PDGF, TGF- $\beta$ , EGF dan FGF merangsang dan mengatur migrasi fibroblas dan mengatur ekspresi dari reseptor integrin. Proliferasi fibroblas diatur dan dirangsang oleh EGF, FGF, kondisi asam rendah oksigen yang ditemukan pada pusat luka. Sekali fibroblas bermigrasi ke daerah luka, selanjutnya akan berubah fenotipnya secara bertahap menjadi *profibrotic phenotype* yang fungsi utamanya juga berubah yaitu untuk sintesa protein. Selain itu, fibroblas juga berubah fenotipnya menjadi *myofibroblast* yang berperan pada kontraksi luka (Li *et al.*, 2007).

Kontraksi dari luka dimulai segera sesudah terjadinya perlukaan dan mencapai puncaknya 2 minggu. Derajat kontraksi luka bervariasi tergantung kedalaman luka. Untuk luka yang dalam, kontraksi merupakan bagian penting dari penyembuhan dan lebih dari 40% menurun dalam ukuran luka (Li *et al.*, 2007).

Miofibroblas adalah mediator utama dari proses kontraksi karena kemampuannya untuk meluas dan menarik. Selama pembentukan jaringan granulasi, secara bertahap fibroblas berubah menjadi myofibroblast yang memegang peranan pada kontraksi luka (Broughton *et al.*, 2006), dengan ciri ikatan mikrofilamen aktin (tidak terlihat normal) yang mampu meregenerasi matriks dan kontraksi (Gurtner, 2007 ; Li, *et al.*, 2007).

Ciri-ciri dari fase ini adalah perubahan komposisi matriks ekstraseluler. Klagan tipe III muncul pertama kali sesudah 48 – 72 jam dan maksimal disekresi antara 5 – 7 hari. Jumlah kolagen total meningkat pada awal perbaikan, mencapai maksimum antara 2 sampai 3 minggu sesudah cedera (Li *et al.*, 2007). Kolagen tipe III yang diproduksi oleh fibroblas selama fase proliferasi akan diganti oleh kolagen tipe I selama beberapa bulan berikutnya melalui proses yang lambat dari kolagen tipe III (Gurtner, 2007).

### **2.5.7.3 Fase Maturasi**

Merupakan fase terpanjang penyembuhan luka yaitu pematangan proses, yang meliputi perbaikan yang sedang berlangsung pada jaringan granulasi yang membentuk lapisan epitel yang baru dan meningkatkan tegangan pada luka (Ueno *et al.*, 2006). Remodeling atau maturasi meliputi deposit dari matriks (Li *et al.*, 2007), deposit kolagen pada tempatnya (Broughton *et al.*, 2006), dan kontraksi

scar (Gurtner, 2007). Pada fase maturasi kekuatan peregangan jaringan ditingkatkan karena cross-linking intermolekular dari kolagen melalui hidroksilasi yang membutuhkan vitamin C (Reddy *et al.*, 2012).

## 2.5.8 Kontraksi Luka

### 2.5.8.1 Konsep Kontraksi Luka

Kontraksi luka adalah proses penyempitan ukuran luka. Proses penyembuhan dapat dilihat secara fisik dengan menilai tingkat kontraksi luka (Ama, 2012). Sekeliling kulit yang tak luka tertarik menutupi defek sebagai proses kontraksi luka. Hal ini berhubungan dengan gerakan centripetal kulit. Kulit yang memiliki struktur dermis normal akan tertarik. Kontraksi luka mengurangi area jaringan parut yang menutup defek, oleh karena itu secara umum kontraksi luka menguntungkan (Prabakti, 2005).

Mekanisme kontraksi luka lebih disebabkan oleh kontraksi fibroblast (*myofibroblast*). *Myofibroblast* terdapat di seluruh tubuh terutama terpusat disekitar luka (Sabiston, 1995). *Myofibroblast* adalah sel yang bertanggung jawab pada kontraksi luka yang merupakan sel mesenkim dengan fungsi dan karakteristik struktur seperti fibroblast dan sel-sel otot polos. Sel tersebut merupakan komponen seluler jaringan granulasi atau jaringan parut yang membangkitkan tenaga kontraktile melibatkan aktivitas kontraksi muskuler aktin-miosin sitoplasma (Prabakti, 2005).

Terdapat dua teori tentang bagaimana mekanisme *myofibroblast* mendorong tepi-tepi untuk mengurangi ukuran luka 80% dalam waktu 10 hari. Salah satu teori menyatakan bahwa miofibril bekerja dibalik tepi luka dan

mendorong tepi luka kedepan, kearah bagian tengah, sedangkan teori lain menyatakan miofibril pada bagian tengah luka mendorong tepi-tepi luka kearahnya (Sabiston, 1995).

Miofibroblas berasal dari fibroblast luka, dan tanda dari fenotip myofibroblast adalah ekspresi aktin otot halus-alpha, bentuk aktif serupa dengan sel-sel otot polos vaskuler. Mikrofilamen aktin tersusun sepanjang axis panjang fibroblast dan berhubungan dengan dense bodies untuk tambahan pada sekeliling matriks seluler. *Myofibroblast* juga memiliki tambahan fungsi unik yang menghubungkan sitoskeleton ke matriks ekstraseluler yang disebut *fibronexus*. Fibronexus dibutuhkan untuk kineksi yang mejembatani mambran sel antara mikrofilamen intraseluler dan fibrinectin ekstraseluler. Jadi, kekuatan kontraksi luka mungkin disebabkan oleh kumparan aktin dalam *myofibroblast*, dan hal tersebut diteruskan ke tepi luka oleh ikatan sel-sel dan sel-matriks (Prabakti, 2005).

#### **2.5.8.2 Perhitungan Kontraksi Luka**

Pengecilan luas luka dapat menjadi tanda luka yang akan sembuh. Hal ini terjadi karena luas luka sebagai indikator terjadinya kontraksi luka, ketika luas luka mengecil maka kontraksi luka berjalan dengan baik. Luas luka mengindikasikan laju penyembuhan luka dan menjadi patokan awal efek management luka (Yunitasari, 2014). Penyembuhan luka bakar pada hewan coba dinilai dari dua parameter yaitu tingkat kontraksi luka % dan periode epitelisasi. Kontraksi luka dicatat berdasarkan perubahan progresif pada area luka bakar, tidak termasuk hari pembuatan luka. Kontraksi luka % dihitung menggunakan rumus berikut: (Makela, *et al.*, 2013)

$$\text{Kontraksi luka \%} = \frac{\text{Luaslukaawal} - \text{luaslukapadaharikeX}}{\text{luaslukaawal}} \times 100\%$$

Luas area kontraksi luka diukur mulai dari ujung permukaan turun ke bagian dermis yang lebih rendah dimana proliferasi fibroblas berakhir dan difoto dengan kamera digital beresolusi 14 Mpixel dengan pengamatan menggunakan penggaris yang hasilnya dimasukkan kedalam software komputer Image J 2015.

## 2.5 Gel

Gel adalah sistem koloid yang fase terdispersinya berupa cairan, sedangkan medium pendispersinya berupa zat padat. Pada umumnya gel terdiri dari sol liofil (hidrofil) yang fase terdispersinya mempunyai kemampuan sangat kuat untuk menarik medium pendispersinya (air), sehingga dihasilkan koagulan yang bentuknya antara padat dan cair (kental, beku atau semipadat) (Sumardjo, 2009). Menurut definisi gel adalah sistem semi padat dimana ada interaksi (baik fisik maupun kovalen) antar partikel koloid dalam pembawa cair. Pembawa terus menerus berinteraksi dengan partikel koloid dalam jaringan tiga dimensi yang terbentuk oleh ikatan partikel berdekatan. Pembawa cair tersebut bisa menggunakan air dan alkohol. Partikel koloid dapat berupa padatan terdispersi seperti kaolin, bentonite atau polimer terdispersi. Ada dua katagori utama dari gel, berdasarkan pada sifat jaringan tiga dimensi (Jones, 2008).

Sediaan dalam bentuk gel lebih banyak digunakan karena rasa dingin dikulit, mudah mengering membentuk lapisan film sehingga mudah dicuci. Gel

umumnya merupakan sediaan semipadat jernih, tembus cahaya dan mengandung zat aktif, merupakan dispersi koloid mempunyai kekuatan yang disebabkan oleh jaringan yang saling berikatan pada fase terdispersi (Lachman *et al.*, 2007). Keuntungan lain dari bentuk sediaan gel dibandingkan dengan sediaan topikal lain yaitu tidak lengket, konsentrasi bahan pembentuk gel yang dibutuhkan hanya sedikit untuk membentuk masa gel yang baik, viskositas gel tidak mengalami perubahan yang berarti pada suhu penyimpanan (Sihombing, 2009). Kemudian sediaan gel juga memiliki kemampuan penyebaran baik pada kulit, tidak ada penghambatan fungsi rambut secara fisiologi dan pelepasan terhadap obat juga baik (Jones, 2008).

#### **2.5.1 Keunggulan Gel Pada Sediaan Farmasi Untuk Kulit (Lieberman *et al.*, 2005):**

##### **a) Waktu Kontak Lama**

Kulit mempunyai barrier yang cukup tebal sehingga dibutuhkan waktu yang cukup lama untuk zat aktif dapat berpenetrasi ke dalam kulit.

##### **b) Kadar Air dalam Gel Tinggi**

Jumlah air yang banyak dalam gel akan menghidrasi stratum corneum sehingga terjadi perubahan permeabilitas stratum corneum menjadi lebih permeabel terhadap zat aktif yang dapat meningkatkan permeasi zat aktif.

##### **c) Resiko Munculnya Peradangan Akan Ditekan**

Kandungan air yang banyak pada gel dapat mengurangi resiko peradangan lebih lanjut akibat penumpukan lipida pada pori-pori, karena lipida tersebut merupakan makanan bakteri. Upaya lain yang diperlukan adalah perlindungan

terhadap penguapan yaitu untuk menghindari masalah pengeringan, maka dalam penyimpanan dipilih penggunaan tube.

### 2.5.2 Komponen Formula Gel

Gel umumnya mengandung komponen seperti *gelling agent*, *neutralizer*, *penetration enhancer*, *moisturizer*, humektan dan pengawet, akan tetapi komponen formula tersebut dapat dimodifikasi sesuai dengan spesifikasi gel yang diinginkan (Jones, 2008).

#### 2.5.2.1 Pembentuk Gel (Basis)

Basis gel digunakan sebagai pengikat dalam granulasi, koloid pelindung dalam suspensi, pengental untuk sediaan oral dan sebagai basis supositoria. Dalam kosmetik, gel digunakan dalam berbagai ragam dan aneka produk seperti shampo, sediaan pewangi, pasta gigi dan sediaan untuk perawatan kulit dan rambut. Basis gel yang ideal untuk sediaan farmasi yaitu inert, aman, tidak bereaksi dengan komponen lainnya. Inkompatibilitas yang potensial dapat terjadi dengan mencampur obat yang bersifat kation, pengawet, surfaktan dengan senyawa pembentuk gel anionik. Pemilihan basis gel dalam setiap formulasi bertujuan untuk membentuk sifat seperti padatan yang cukup baik selama penyimpanan (Herdiana, 2007).

Polimer yang biasa digunakan untuk membuat gel farmasetik meliputi gom alam tragakan, pektin, karagen, agar, asam alginat, serta bahan-bahan sintesis dan semisintesis seperti metil selulosa, hidroksietil selulosa, karboksimetil selulosa, dan carbomer yang merupakan polimer vinil sintesis dengan gugus karboksil yang terionisasi. Pada penelitian ini digunakan basis gel berupa HPMC. Hidroksipropil-

metilselulosa(HPMC) merupakan dasar gel semisintetik turunan selulosa, merupakan pengikat zat aktif yang kuat dan dapat meningkatkan laju difusi obat (Salman, 2010). Basis ini apabila dibandingkan dengan basis gel lain mempunyai keunggulan tersendiri yaitu menghasilkan gel yang lebih bening dan mudah larut dalam air, dan meningkatkan laju difusi obat(Hasyim, 2011).

#### **2.5.2.2 Humektan**

Propilen glikol adalah cairan kental, tidak bewarna, berbau, rasa manis sedikit pedas dan higroskopis agent. Propilen glikol berfungsi sebagai pengawet, humektan, pelarut, penstabil agen, dan co-solvent air-larut (Jones, 2008).

Propilen glikol umumnya digunakan dalam industri kosmetik dan makanan sebagai pembawa emulsifier dan larut dalam aseton, kloroform, etanol (95%), gliserin, dan air tetapi tidak larut dalam minyak mineral atau minyak ringan dan larut dengan beberapa minyak esensial. Propilen glikol tidak kompatibel dengan reagen pengoksidasi seperti kalium permanganat. Propilen glikol bersifat higroskopis dan harus disimpan dalam wadah tertutup, terlindung dari cahaya, di tempat yang sejuk dan kering. Konsentrasi propilen glikol sebagai humektan pada sediaan topikal yaitu 15% dan sebagai solven/cosolven pada sediaan topikal yaitu 5-80% (Rowe, 2009).

#### **2.4.2.3 Pengawet**

Nipagin adalah suatu senyawa ester metil dari asam p-hidroksibenzoat. Nipagin atau metil hidroksi benzoat pada umumnya digunakan sebagai antimicrobial preservative. Senyawa ini merupakan bahan tambahan dari senyawa turunan asam benzoat, yang berfungsi sebagai antimikroba atau pengawet.

Senyawa ini sering juga dikenal dengan metil paraben. Pemerian nipagin bewarna putih, kristal, tidak berbau, dan tidak berasa. Larut di aseton, etanol, eter, dan praktis tidak larut pada mineral oil dan air. Nipagin inkompatibel dengan surfaktan nonionik dengan menghasilkan miselasi. Penggunaan nipagin pada sediaan topikal adalah 0,02% hingga 0,3% (Rowe, 2009; Marriot, 2010).

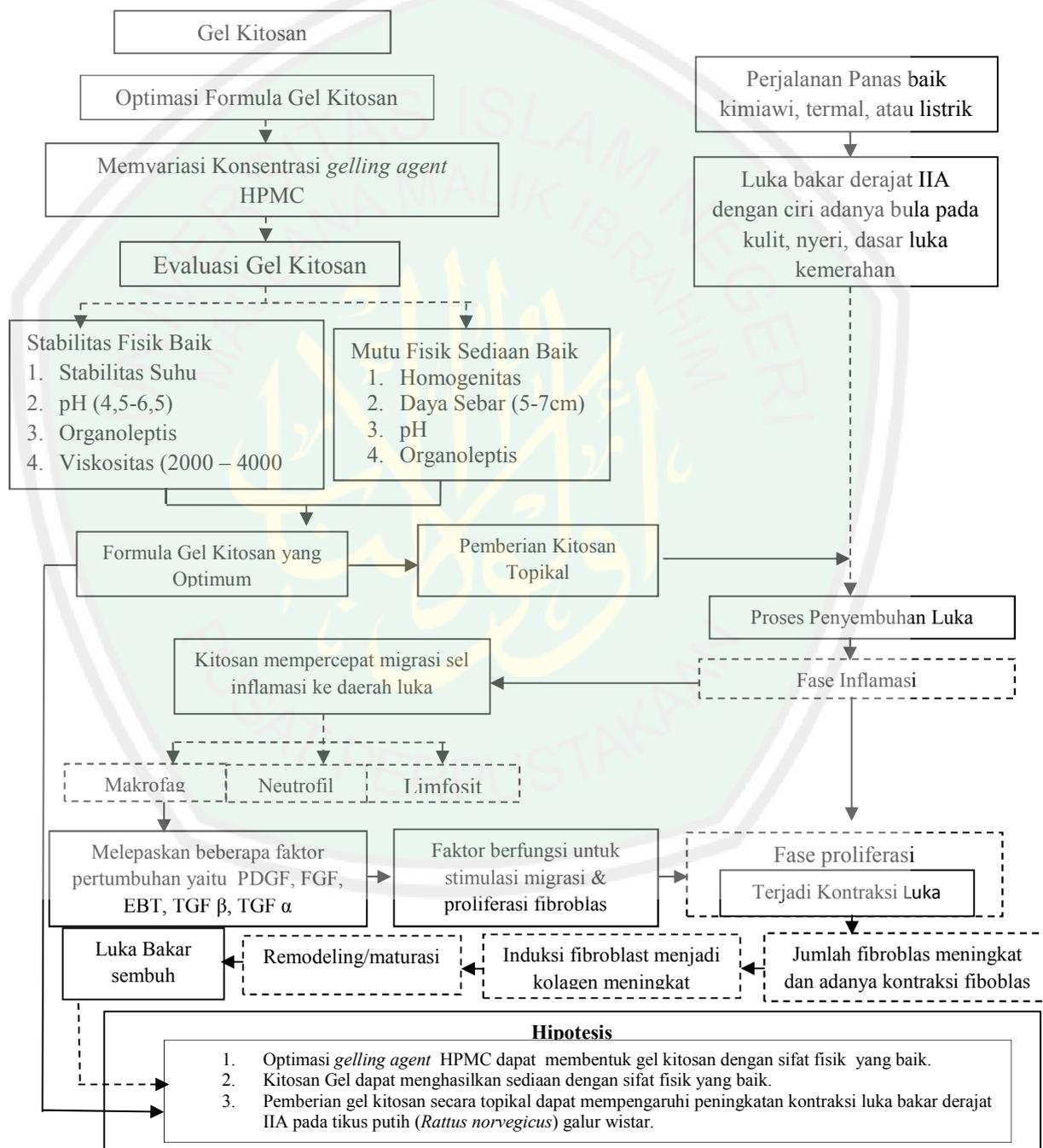
#### **2.4.2.4 Pelarut**

Aquades adalah cairan jernih, tidak bewarna, tidak berbau dan tidak mempunyai rasa. Aquades umumnya digunakan sebagai pelarut. Aquades dapat bercampur dengan pelarut polar. Aquades stabil dalam semua kondisi fisika (es, cairan dan uap) dan stabil di udara. Penyimpanan aquades dalam wadah tertutup dan terlindungi dari cemaran mikroorganisme dan kontaminan lain (Rowe, 2009).

### BAB III

## KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

### 3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Bagan Kerangka Penelitian

### Keterangan

	: Diteliti
	: Tidak diteliti
	: Berpengaruh
	: Berhubungan

### 3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Kitosan adalah produk dari kitin dan salah satu dari polisakarida yang melimpah di alam. Disamping diketahui sebagai biopolimer, kitosan juga memiliki berat molekul yang tinggi dan merupakan komponen utama serangga dan *crusthacea*. Kitosan adalah material yang sesuai untuk penyembuhan luka dikarenakan Kitin memiliki aktivitas anti-infunksional dan percepatan penyembuhan luka (Simbun, 2010).

Formulasi gel kitosan dilakukan optimasi terlebih dengan *gelling agent* HPMC. Dalam pembuatan gel, pemilihan *gelling agent* sangat menentukan hasil akhir sediaan. Keunggulan HPMC yaitu membentuk gel yang bening dan mudah larut dalam air (Purnomo, 2012). Optimasi *gelling agent* ini diharapkan dapat diaplikasikan sebagai pembentuk gel yang stabil dan baik dalam formulasi gel kitosan yang dapat mempengaruhi kecepatan penyembuhan luka bakar derat IIA. Formulasi optimasi *gelling agent* gel kitosan yang didapat kemudian dijadikan formulasi acuan untuk mengetahui aktivitas kitosan terhadap penyembuhan luka bakar.

Derajat luka bakar yang digunakan dalam penelitian ini adalah luka bakar derajat IIA. Karakteristik luka bakar derajat IIA yaitu terbentuknya bula atau lepuhan, nyeri dan dasar luka bewarna kemerahan. Tikus diinduksi luka bakar,

lalu dirawat menggunakan gel kitosan yang diberikan secara topikal dengan menggunakan gel kitosan. Sebelum diberikan sediaan gel kitosan luka bakar dibersihkan dahulu dengan normal saline (NaCl 0,9 %). Setelah luka dibersihkan, gel kitosan dioleskan pada luka bakar.

Tindakan luka bakar akan diikuti oleh fase awal penyembuhan luka yaitu fase inflamasi. Pada fase inflamasi, tubuh mengalami aktifitas bioseluler dan biokimia, yaitu reaksi tubuh memperbaiki kerusakan kulit, sel darah putih memberikan perlindungan dari infeksi dan pembersihan benda asing yang menempel pada luka. Terdapat tiga sel inflamasi yang bermigrasi ke daerah luka yaitu neutrofil, makrofag dan limfosit. Makrofag berfungsi untuk membersihkan benda asing dari daerah luka. Selanjutnya makrofag akan mengeluarkan beberapa faktor pertumbuhan yaitu *platelet-derived growth factor* (PDGF), *epidermal growth factor* (EGF), *fibroblast growth factor* (FGF), *transforming growth factor Beta* (TGF  $\beta$ ) dan *transforming growth factor alfa* (TGF  $\alpha$ ). Faktor-faktor ini berfungsi untuk menstimulasi migrasi dan proliferasi dari fibroblast. Pada fase proliferasi terjadi kontraksi luka. Kontraksi luka terjadi karena adanya gerakan myofibroblast yang mendorong tepi luka kedepan dan kearah bagian tengah luka. Fibroblas akan berpoliferasi dan mensintesis kolagen. Fibroblas akan mencapai jumlah puncaknya pada hari ketujuh. Selanjutnya fibroblas akan terinduksi menjadi kolagen. Kolagen yang dihasilkan berfungsi untuk merekonstruksi jaringan. Fase terakhir adalah maturasi. Pada fase ini terjadi remodeling unsur parenkim untuk mengembalikan fungsi jaringan dan remodeling unsur jaringan

ikat untuk memperoleh ketahanan jaringan yang lebih kuat dan yang terakhir adalah penyembuhan luka.

Kitosan merupakan polisakarida yang terbentuk dari  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)- linked GicNAc dan D-glucosamine (GicN). Bagian dari kitosan yaitu BicNAc berfungsi sebagai pemercepat penyembuhan luka. Pada proses penyembuhan luka dengan kitosan, jumlah sel fibroblas pada hari ketujuh yang seharusnya mencapai puncak menjadi menurun. Hal ini dikarenakan kitosan mampu mempercepat kontraksi luka melalui peningkatan jumlah pembentukan sel-sel fibroblas. kitosan dapat menginduksi fibroblas lebih cepat dan mengubahnya menjadi kolagen.

Kitosan memiliki kemampuan untuk meningkatkan paruh waktu bFGF dibandingkan kelompok kontrol dengan cara melindungi bFGF agar tidak terdegradasi oleh panas atau enzim-enzim yang mungkin akan merusaknya. Kitosan juga mampu menginduksi fibroblast yang lebih cepat, dan serat kolagen yang lebih banyak. Oleh karena itu, pemberian gel kitosan dapat mempercepat fase penyembuhan luka bakar derajat IIA

### 3.3 Hipotesis Penelitian

- 1) Optimasi *gelling agent* HPMC dapat membentuk gel kitosan dengan sifat fisik yang baik.
- 2) Kitosan Gel dapat menghasilkan sediaan dengan sifat fisik yang baik.
- 3) Pemberian gel kitosan secara topikal dapat mempengaruhi peningkatan kontraksi luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar.

## BAB IV

### METODOLOGI PENELITIAN

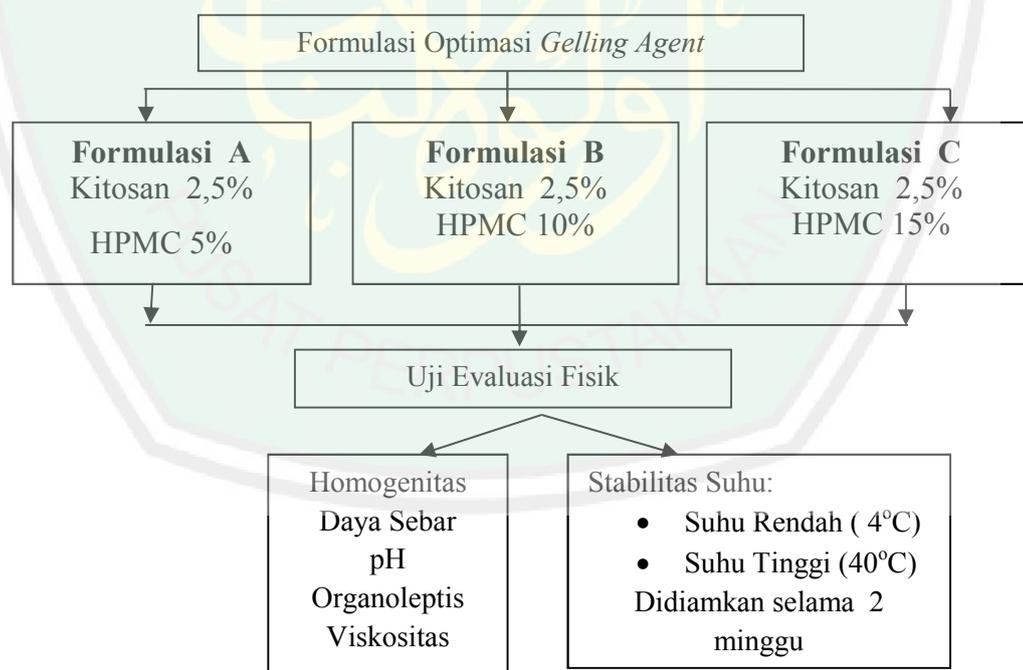
#### 4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

##### 4.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni (*True Eksperimental Laboratory*) secara *in vivo* dengan menggunakan rancangan percobaan *Randomized Post Test Only Control Group Design*.

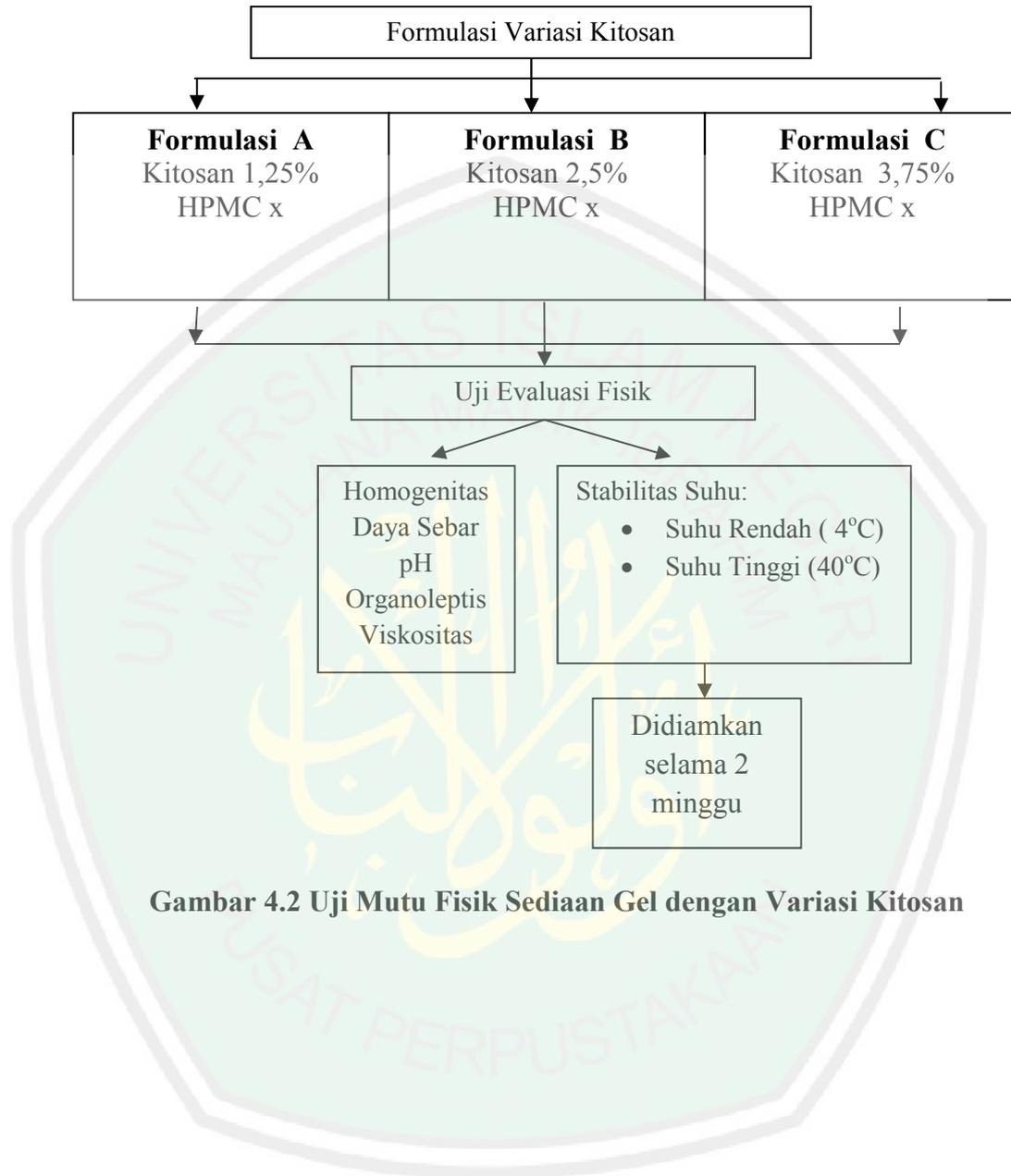
##### 4.1.2 Rancangan Penelitian

##### 4.1.2.1 Uji Mutu Fisik Sediaan Gel dengan Variasi Kombinasi *Gelling Agent*



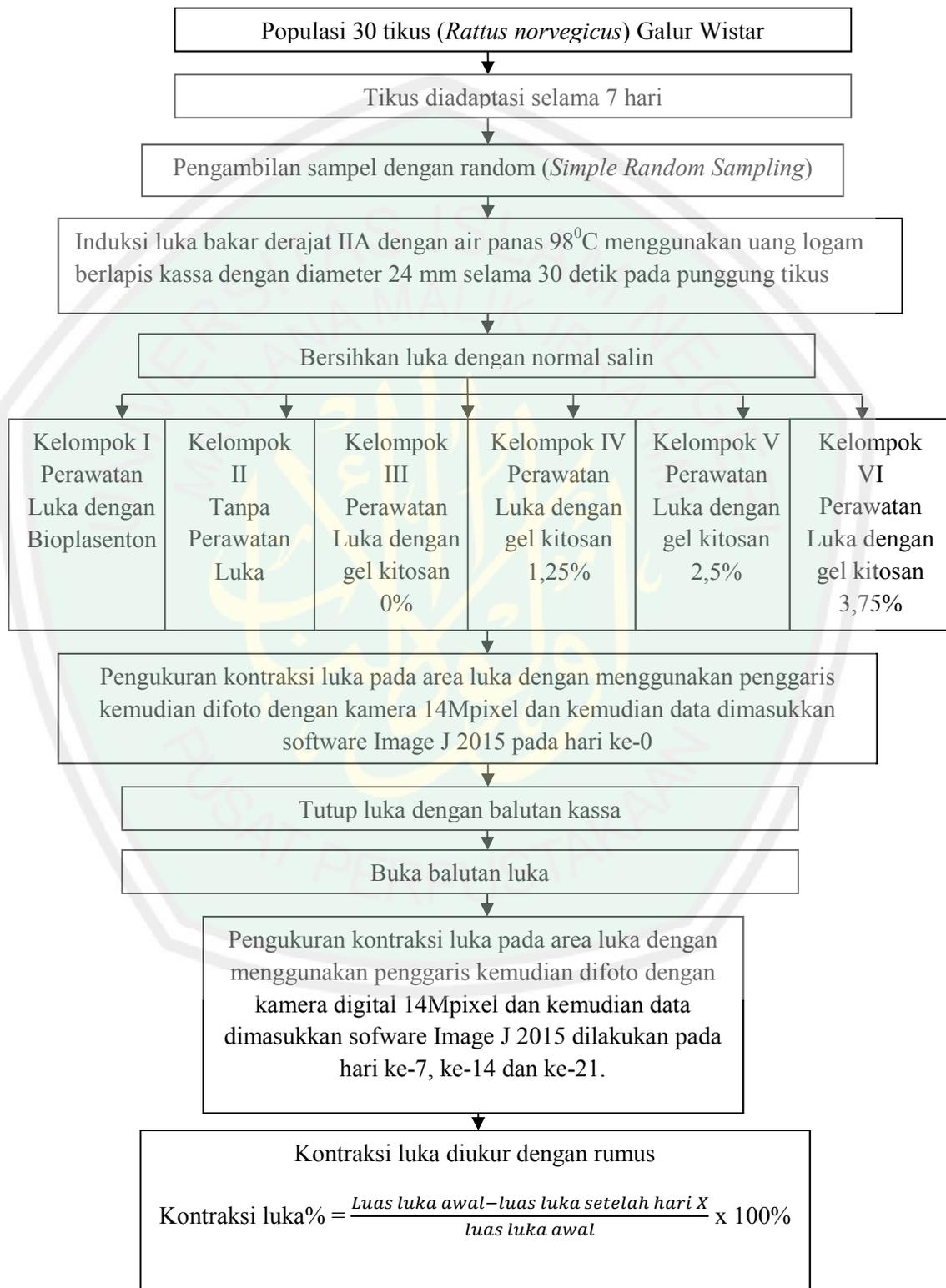
**Gambar 4.1 Uji Mutu Fisik Sediaan Gel dengan Variasi Kombinasi *Gelling Agent***

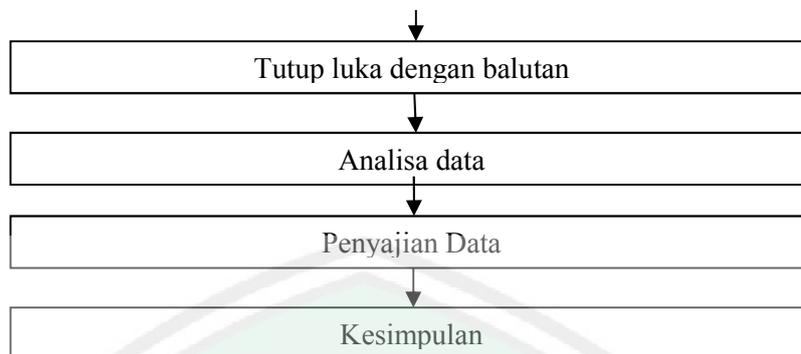
#### 4.1.2.2 Uji Mutu Fisik Sediaan Gel dengan Variasi Kitosan



Gambar 4.2 Uji Mutu Fisik Sediaan Gel dengan Variasi Kitosan

#### 4.1.2.3 Uji Aktivitas Gel dengan Variasi Konsentrasi Kitosan Terhadap Peningkatan Kontraksi Luka Bakar Derajat IIA





**Gambar 4.3 Uji Aktivitas Gel dengan Variasi Konsentrasi Kitosan Terhadap Peningkatan Kontraksi Luka Bakar Derajat IIA**

## **4.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

### **4.2.1 Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei – Juni 2017.

### **4.2.2 Tempat Penelitian**

Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Jurusan Farmasi dan Laboratorim Fisiologi Hewan Jurusan Biologi, Universitas Islam Negeri Maulana Maulana Malik Ibrahim Malang.

## **4.3 Populasi dan Sampel**

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar karena memiliki persamaan filogenik dengan manusia dan juga memiliki sifat-sifat dan respon biologis yang mendekati manusia. Tikus dipelihara di Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pemeliharaan dilakukan dalam kandang yang bersih dengan sekam yang diganti setiap hari.

Sampel yang ditentukan sebagai subjek penelitian adalah tikus wistar yang dibuat luka bakar derajat IIA dengan kriteria berikut:

Kriteria Inklusi:

- a. Jenis kelamin jantan.
- b. Usia pada tikus 2 sampai 2,5 bulan yang merupakan usia pertumbuhan, karena proliferasi sel pada usia pertumbuhan lebih cepat, sehingga akan mampu dalam mendukung penyembuhan luka.
- c. Berat badan tikus 150-250 gram.
- d. Sehat, aktif, jinak, berbulu licin, mengkilat dan bersih, memiliki bulu yang tebal dan tidak kasar, tidak ada luka, memiliki mata yang jernih dan baik dan bewarna kuning mengkilap.

Kriteria Eksklusi:

- a. Tikus tidak pernah digunakan dalam penelitian sebelumnya.
- b. Tikus yang kondisinya menurun atau mati selama penelitian berlangsung.

Perhitungan jumlah sampel didapatkan dengan rumus sebagai berikut:

$$P(n-1) \geq 15$$

$$6n-5 \geq 15$$

$$6n \geq 15+5$$

$$6n \geq 20$$

$$n \geq 3,5$$

Keterangan:

**p** = perlakuan

**n** = Jumlah sampel tiap perlakuan

Jadi, penelitian ini membutuhkan jumlah sampel sebanyak 4 ekor tikus hasil pembulatan untuk masing-masing kelompok. Sehingga total jumlah sampel

yang dibutuhkan dalam penelitian ini sebanyak 24 ekor tikus. Namun, untuk menghindari apabila ada kemungkinan sampel yang digunakan mati, maka jumlah total tikus yang dibutuhkan adalah 30 ekor tikus *Rattus norvegicus*.

#### **4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional**

##### **4.4.1 Variabel Penelitian**

###### **1) Variabel Bebas**

1. Optimasi basis gel HPMC 5%, 10% dan 15%. Perawatan luka bakar dengan sediaan gel kitosan. Konsentrasi kitosan yang digunakan adalah 1,25%, 2,5%, dan 3,75%.

###### **2) Variabel Terikat**

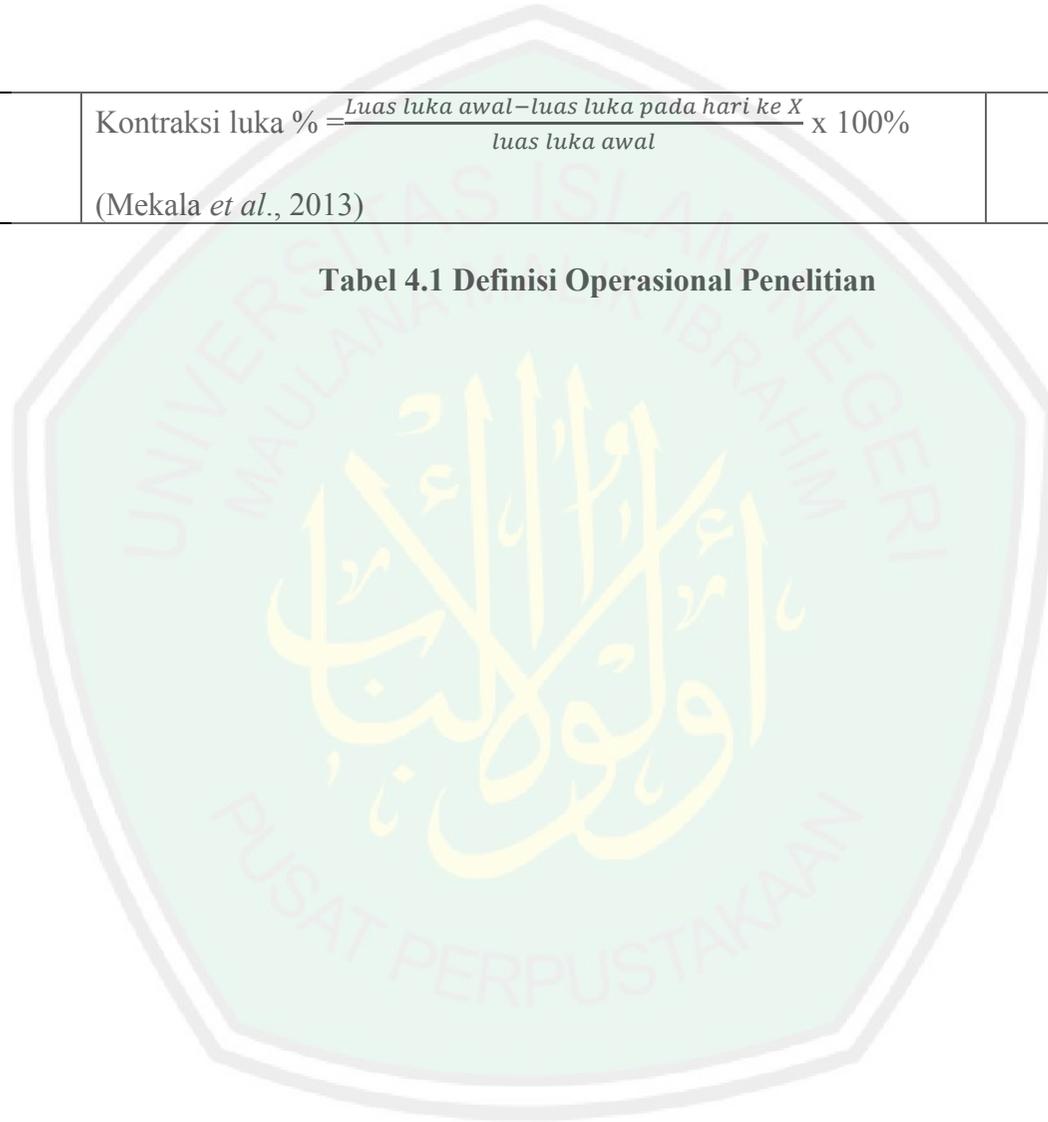
1. Hasil karakteristik (organoleptis, pH, daya sebar, homogenitas, viskositas) dan uji stabilitas fisik gel kitosan.
2. Kontraksi luka bakar derajat IIA pada fase proliferasi.

#### 4.4.2 Definisi Operasional

No	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Parameter	Hasil Ukur	Skala
1	Mutu fisik gel	Pengukuran mutu fisik dilakukan pada hari ke-0 (organoleptis, homogenitas, daya sebar, pH), dan hari ke-14 (stabilitas suhu)	-	Organoleptis, pH, stabilitas, homogenitas, dan daya sebar	Ratio
2	Luka bakar derajat IIA	Luka bakar derajat IIA disebabkan oleh uang logam yang dibungkus oleh kassa steril yang dicelupkan kedalam air mendidih 98°C dan ditempelkan di punggung tikus putih sebelah kanan dengan diameter 3 cm selama 3 menit, kemudian uang logam diangkat dan kemudian ditunggu sampai munculnya bula (6-8 jam). Luka bakar yang telah terbentuk distrerilkan dengan NS agar luka bakar tidak semakin meluas dan bertambah dalam. Luka ditutup dengan kassa.	-	cm <sup>2</sup>	Ratio
3	Terapi luka bakar derajat IIA dengan menggunakan gel kitosan	Perlakuan pada luka bakar derajat IIA dibersihkan dahulu dengan NS setelah itu diolesi dengan gel kitosan dengan dosis 1,25%, 2,5%, dan 3,75% tiap perlakuan dengan lidi cotton steril pada permukaan luka dan ditutup dengan balutan kassa setelah itu di plester. Balutan di buka pada hari berikutnya (24 jam) untuk dilakukan perawatan luka kembali.	-		Nominal
4	Kontraksi luka	Luas area kontraksi luka diukur mulai dari ujung ke ujung permukaan luka. Proses identifikasi luas luka dilakukan pada hari ke-0, ke-7, ke-14, dan ke-21 dan difoto dengan kamera digital beresolusi 14Mpixel dengan pengamatan menggunakan penggaris yang hasilnya dimasukkan kedalam software komputer Image J 2015 selanjutnya dihitung dengan menggunakan rumus persentase kontraksi luka:	%	Luas luka	Ratio

		Kontraksi luka % = $\frac{\text{Luas luka awal} - \text{luas luka pada hari ke } X}{\text{luas luka awal}} \times 100\%$			
		(Mekala <i>et al.</i> , 2013)			

**Tabel 4.1 Definisi Operasional Penelitian**



## 4.5 Alat dan Bahan Penelitian

### 4.5.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik (Ohaus Pioneer PA214), Viskometer (RION VT-06), mortir, stemper, oven, kapas atau kassa, pH meter (Mettler Toledo), beaker gelas 50, 100 dan 250 mL (Pyrex), batang pengaduk, spatula, sendok, gelas objek, cawan petri, lidi cotton, bunsen, pipet tetes, labu ukur, oven (Mettmert UNB-400), kaca preparat, kaki tiga, anak timbangan, alat perawatan luka, uang logam (Rp 500), spuit(2cc), penggaris, gunting, sarung tangan, dan kamera (14Mpixel).

### 4.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk kitosan udang diperoleh dari toko Amani Malang, tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang didapat dari Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Kedokteran UGM. Pelarut yang digunakan untuk kitosan (p.a) adalah asam asetat 2% (E Merck) dan natrium asetat (E Merck). Formulasi gel yang digunakan adalah, HPMC (Bratachem), propilen glikol (Bratachem), aquades bebas CO<sub>2</sub>, metil paraben (Bratachem), propil paraben (Bratachem). Pembuatan luka bakar pada tikus adalah aquades panas 98°C. Perawatan luka yang digunakan adalah bioplasenton (PT Kalbe Farma), alkohol 70% (Brataco), normal saline (NaCl 0,9%) (E Merck).

## 4.6 Tahapan Penelitian

### 4.6.1 Rancangan Formulasi

Pada penelitian ini akan dibuat sediaan gel kitosan dengan *gelling agent* HPMC. Konsentrasi HPMC adalah 5%, 10% dan 15%. Sediaan gel akan dibuat dengan berat 30 gram.

Tabel 4.2 Formulasi Sediaan Gel dengan Variasi Basis

Bahan	Fungsi	Konsentrasi % (b/v) / (v/v)		
		FA	FB	FC
Kitosan	Zat Aktif	2,5	2,5	2,5
HPMC	Basis gel	5	10	15
Metil paraben	Pengawet	0,02	0,02	0,02
Propil paraben	Pengawet	0,18	0,18	0,18
Asam Asetat 2%	Solvent	7,5	7,5	7,5
Propilen Glikol	Humektan	15	15	15
Aquades	Solvent	50	50	50
Buffer Asetat pH 5 (add)	Solvent	100	100	100

**Keterangan:**

Sediaan gel dibuat sebanyak 30 gram.

FA : Formulasi gel kitosan dengan basis HPMC 5%

FB : Formulasi gel kitosan dengan basis HPMC 10%

FC : Formulasi gel kitosan dengan basis HPMC 15%

Sediaan gel kitosan diformulasikan dengan berbagai konsentrasi berbeda 1,25%, 2,5% dan 5% setelah *gelling agent* yang optimum didapatkan dari penelitian sebelumnya yaitu dengan menggunakan HPMC. Dimana masing-masing gel akan dibuat sebanyak 30 gram. Formulasi gel kitosan sebagai berikut:

Tabel 4.3 Formulasi Sediaan Gel dengan Variasi Konsentrasi Kitosan

Bahan	Fungsi	Konsentrasi % (b/v) / (v/v)		
		FA	FB	FC
Kitosan	Zat Aktif	1,25	2,5	3,75
HPMC	Basis gel	x	x	x
Metil paraben	Pengawet	0,02	0,02	0,02
Propil paraben	Pengawet	0,18	0,18	0,18
Propilen Glikol	Humektan	15	15	15
Asam Asetat 2%	Solvent	3,75	7,5	11,25
Aquades	Solvent	50	50	50
Buffer Asetat pH 5 (add)	Solvent	100	100	100

**Keterangan:**

F1 : Formulasi gel kitosan dengan konsentrasi 1,25%

F2 : Formulasi gel kitosan dengan konsentrasi 2,5%

F3 : Formulasi gel kitosan dengan konsentrasi 3,75%

Dasar-dasar pemilihan bahan yang digunakan:

### 1. Propilen Glikol

Digunakan sebagai humektan yang dapat mencegah hilangnya air dari kulit. Digunakan sebanyak 15% yang merupakan konsentrasi umum propilen glikol sebagai humektan. Propilenglikol juga digunakan sebagai pelarut dari propil paraben dan metil paraben (Rowe *et al.*, 2009).

### 2. Propil Paraben

Berfungsi sebagai pengawet atau antimikroba yang melindungi gel dari adanya pertumbuhan mikroba. Rentang umum sebagai antimikroba pada sediaan topikal yakni sebesar 0,01-0,6% (Rowe *et al.*, 2009).

### 3. Metil Paraben

Metil paraben akan membantu kerja dari propil paraben sebagai antimikroba. Kombinasi ini digunakan karena sesuai dan tidak inkompatibel dengan karbopol dan HPMC sebagai *gelling agent*. Rentang umum sebagai antimikroba pada sediaan topikal, yakni sebesar 0,02-0,3% (Rowe *et al.*, 2009).

#### 4.6.2 Pembuatan Sediaan Gel dengan Variasi Konsentrasi Basis HPMC

Cara pembuatan sediaan gel kitosan pertama-tama yang dilakukan adalah menimbang semua bahan dalam gram (b/v dan v/v). HPMC didispersikan di air dingin bebas CO<sub>2</sub> dan ditambahkan air hangat hingga HPMC terdispersi seluruhnya menjadi cairan bening dengan konsistensi yang cukup kental. Kitosan dilarutkan dengan 20 ml buffer asetat 2% pH 5,0 dan digerus hingga homogen. Kemudian ditambahkan metil paraben dan propil paraben yang telah dilarutkan dalam propilenglikol dan gerus hingga homogen. Campuran tersebut dimasukkan dalam kombinasi basis sedikit demi sedikit dan diaduk sampai homogen. Selanjutnya ditambah air dingin hingga didapat massa sediaan 30 gram. Sediaan gel yang telah jadi lalu dikemas dalam tube dan ditutup rapat.

#### 4.6.3 Pembuatan Sediaan Gel dengan Variasi Konsentrasi Kitosan

Cara pembuatan sediaan sediaan gel kitosan dibuat dalam 3 sediaan gel dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 1,25%, 2,5% dan 3,75%. Optimasi *gelling agent* yang digunakan diambil dari uji sebelumnya yaitu kombinasi *gelling agent* yang optimum HPMC. Langkah pertama yang dilakukan adalah menimbang semua bahan dalam gram (b/b dan v/v). HPMC didispersikan di air dingin bebas CO<sub>2</sub> dan ditambahkan air hangat hingga HPMC terdispersi seluruhnya menjadi cairan bening dengan konsistensi yang cukup kental. Kitosan dilarutkan dengan 20 ml buffer asetat 2% dengan pH 5,0 dan digerus hingga homogen. Ditambahkan metil paraben dan propil paraben yang telah dilarutkan dalam propilenglikol, gerus hingga homogen. Campuran tersebut dimasukkan dalam kombinasi basis sedikit demi sedikit dan diaduk sampai homogen. Selanjutnya ditambah air dingin

hingga didapat 30 gram gel. Langkah terakhir adalah mengemas sediaan dalam tube yang tertutup rapat.

#### **4.6.4 Evaluasi Sediaan Gel Kitosan**

##### **4.6.4.1 Uji Organoleptik**

Tujuannya adalah untuk melihat penampakan fisik dari bentuk sediaan yang meliputi warna, konsistensi dan bau menggunakan metode pengamatan secara visual dan penciuman. Spesifikasi organoleptis sediaan adalah bentuk sediaan, bewarna kuning pucat, dan tidak berbau (Ditjen POM. 1995).

##### **4.6.4.2 Uji Homogenitas Fisik**

Tujuannya adalah untuk melihat homogenitas dari suatu sediaan gel apakah terdapat gumpalan partikel atau tidak. Pemeriksaan homogenitas dilakukan dengan cara mengoleskan 0,5 gram sediaan pada kaca transparan. Sediaan uji harus menunjukkan susunan yang homogen. Spesifikasi homogenitas sediaan adalah homogen dengan distribusi merata (Carter, 1997). Penafsiran hasilnya adalah partikel terdistribusi merata, tidak ada granul yang terlihat pada lapisan tipis.

##### **4.6.4.3 Uji pH**

Tujuannya adalah untuk mengetahui pH dari sediaan apakah sesuai dengan pH kulit manusia. Pemeriksaan pH menggunakan pH meter dengan cara mengkalibrasi alat terlebih dahulu menggunakan pH netral, kemudian dicuci dengan aquades, lalu dikeringkan dengan tissue. Lalu elektroda dicelupkan, sampai alat menunjukkan pH konstan. Angka yang ditunjukkan oleh pH meter

merupakan harga pH sediaan (Panjaitan, 2012). Interpretasinya pH sediaan memenuhi persyaratan pH kulit yaitu 4,5-6,5 (Tranggono, 2007).

#### 4.6.4.4 Uji Daya Sebar

Tujuannya adalah untuk mengetahui daya sebar dari sediaan gel sehingga mengetahui daya sebar gel pada kulit. Pengujiannya dilakukan dengan gel hasil formulasi sebanyak 1 gram diletakkan dengan hati-hati di atas kaca transparan, lalu ditutup dengan kaca transparan lain yang sudah diketahui bobotnya. Selanjutnya ditutup dan diberi pemberat di atasnya seberat 50, 100, 200 dan 500 gram, secara bergantian, didiamkan selama 1 menit dan dicatat diameter penyebaran setiap beban (Swastika, 2013). Spesifikasi daya sebar sediaan adalah semakin luas daerah persebaran pada setiap penambahan beban maka mengidentifikasi sediaan tersebut memiliki daya sebar yang baik. Daya sebar yang baik yaitu antara 5 sampai 7 cm (Garget *al.*, 2002).

#### 4.6.4.5 Uji Stabilitas Fisik

##### A. Stabilitas Suhu

Sampel gel kitosan diuji stabilitasnya dengan menyimpan sediaan gel pada suhu dingin  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$  dan suhu tinggi  $40\pm 2^{\circ}\text{C}$  dengan *Freeze Thaw Test* dengan 7 siklus dan dilihat apakah sediaan gel tetap stabil dan tidak menunjukkan perubahan fisik. Uji ini dilakukan selama 2 minggu dan dilihat pada minggu 1 dan 2. Spesifikasi sediaan adalah stabil dalam berbagai suhu tanpa perubahan organoleptis (Fauzy, 2012).

#### 4.6.4.6 Uji Viskositas

Pengukuran viskositas dilakukan dengan menempatkan sampel dalam Viskometer Brookfield DV-E hingga spindel terendam. Diatur spindel dan kecepatan yang akan digunakan. Viskometer Brookfield DV-E dijalankan, kemudian viskositas dari gel akan terbaca (Septiani dkk., 2011). Spesifitas viskositas yang baik adalah 2000 – 4000 cps (Garg *et al*, 2002).

#### 4.6.5 Teknik Sterilisasi Alat Perawatan Luka

Penelitian ini menggunakan teknik perebusan untuk sterilisasi alat-alat logam menggunakan autoklaft. Temperatur 100°C akan membunuh semua bakteri pada kultur, suhu 121°C selama 15 menit dapat digunakan untuk membunuh spora. Secara umum digunakan uap karena bakteri lebih cepat terbunuh jika basah dan uap dapat mendistribusi panas ke seluruh bagian bejana sterilisasi. Sedangkan untuk sterilisasi peralatan non logam (misal kassa, cotton bud, sarung tangan, dan lain-lain) menggunakan teknik panas kering yaitu udara panas oleh oven listrik pada suhu 160 – 170°C selama 1 jam atau lebih (Brooks *et al.*, 2001).

#### 4.6.6 Pembuatan Luka Bakar Derajat IIA

Langkah-langkah tindakan untuk membuat luka derajat II A pada hewan coba yang pertama adalah tentukan terlebih dahulu daerah mana yang akan dibuat luka bakar, yaitu punggung kanan atas. Bersihkan dahulu dan cukur area yang akan dibuat luka bakar dengan diameter 2,4 cm. Pasang perlak/alas dibagian bawah tubuh tikus yang akan dibuat luka bakar. Buka bak instrumen steril, cuci tangan dan pakai sarung tangan steril agar menjaga kondisi steril saat perawatan luka. Desinfektan area kulit yang akan dibuat luka bakar derajat II A dengan

alkohol swab, tunggu hingga kering. Lakukan anestesi lokal pada tikus menggunakan kombinasi ketamin dan xylazin agar tikus tidak merasakan sakit saat diinduksi luka bakar derajat IIA. Lipat kassa sesuai dengan luas luka bakar dan bentuk sesuai cetakan. Balut dengan kassa uang logam berbahan aluminium bronze dengan berat 5,34 gram dan tebal 1,86 mm, dan diameter 2,4 cm. Celupkan uang logam yang dibalut kassa dengan air panas dengan suhu 98°C selama 3 menit. Tempelkan uang logam yang dibalut kassa pada hewan coba selama 30 detik. Tunggu sampai berbentuk bula selama 30 detik. Setelah itu angkat kassa lalu kompres bagian luka dengan menggunakan normal saline selama 1 menit untuk mencegah derajat luka bakar yang lebih parah. Kemudian berikan perawatan pada area luka yang terbentuk sesuai prosedur rawat luka, yaitu keringkan dan tutup luka kemudian plester. Langkah yang terakhir yaitu lepas sarung tangan dan rapikan alat dan jangan lupa untuk mencuci tangan (Fitri, 2014).

#### **4.6.7 Perawatan Luka Bakar Derajat IIA**

Perawatan luka pada tikus yang terinduksi luka bakar derajat IIA dengan menggunakan gel kitosan dengan variasi konsentrasi diberikan secara topikal. Langkah pertama yang dilakukan adalah mempersiapkan alat yang telah disterilisasi dan mencuci tangan terlebih dahulu. Tempatkan perlak yang dilapisi kain dibawah luka yang akan dirawat. Atur posisi tikus nyaman mungkin sehingga memudahkan dalam pelaksanaan tindakan perawatan luka. Tempatkan bengkok dekat dengan luka yang akan dirawat. Sebelum melakukan perawatan gunakan sarung tangan agar menjaga kondisi stereril dan kulit praktikan tidak

teriritasi oleh kuman dari tikus yang terkena luka bakar. Lipat dan cetak ukuran kassa sesuai dengan besarnya luka. Bersihkan dahulu luka dengan normal saline 0,9%. Ambil gel kitosan dengan menggunakan cotton bud supaya tidak terkontaminasi dengan tangan kita. Oleskan gel kitosan pada permukaan luka secara hati-hati, kemudian buang cotton ke tempat sampah. Tutup luka dengan kassa steril dan plester supaya luka tidak terkontaminasi oleh udara luar yang menyebabkan luka menjadi semakin melebar. Bersihkan alat-alat yang telah dipakai pada penelitian ini. Perlakuan dilakukan pada 5 kelompok tikus dengan perlakuan yang berbeda seperti berikut ini:

➤ Kelompok I

Kelompok kontrol positif dengan perawatan luka tertutup menggunakan Bioplasenton.

- Bersihkan luka dengan normal saline 0,9%
- Berikan 200 mg gel bioplasenton pada area luka (perawatan dilakukan 1x/hari jam 08.00 – 09.00 WIB).

➤ Kelompok II

Kelompok kontrol negatif dengan perawatan luka tertutup tanpa menggunakan gel

- Bersihkan luka dengan normal saline 0,9%.

➤ Kelompok III

Kelompok kontrol perlakuan P1 dengan perawatan luka tertutup menggunakan gel tanpa kitosan dosis 0%.

- Bersihkan luka dengan normal saline 0,9%.

- Oleskan gel tanpa kitosan dosis 0% sebanyak 200 mg pada area luka menggunakan *cutton bud* steril (perawatan dilakukan 1x/hari jam 08.00 – 09.00 WIB).

➤ Kelompok IV

Kelompok kontrol perlakuan P2 dengan perawatan luka tertutup menggunakan gel kitosan dosis 1,25%.

- Bersihkan luka dengan normal saline 0,9%.
- Oleskan gel kitosan dosis 1,25% sebanyak 200 mg pada area luka menggunakan *cutton bud* steril (perawatan dilakukan 1x/hari jam 08.00 – 09.00 WIB).

➤ Kelompok V

Kelompok kontrol perlakuan P3 dengan perawatan luka tertutup menggunakan gel kitosan dosis 2,5%.

- Bersihkan luka dengan normal saline 0,9%.
- Oleskan gel kitosan dosis 2,5% sebanyak 200 mg pada area luka menggunakan *cutton bud* steril (perawatan dilakukan 1x/hari jam 08.00 – 09.00 WIB).

➤ Kelompok VI

Kelompok kontrol perlakuan P4 dengan perawatan luka tertutup menggunakan gel kitosan dosis 3,75%.

- Bersihkan luka dengan normal saline 0,9%.

- Oleskan gel kitosan dosis 3,75% sebanyak 200 mg pada area luka menggunakan *cutton bud* steril (perawatan dilakukan 1x/hari jam 08.00 – 09.00 WIB).

#### **4.7 Pengumpulan Data**

##### **4.7.1 Mutu Fisik Sediaan Gel dengan Variasi Konsentrasi Kitosan**

Uji mutu fisik gel kitosan sesuai dengan uji mutu fisik gel dengan variasi kombinasi *gelling agent*.

##### **4.7.2 Kecepatan Penyembuhan Luka Bakar dengan Variasi Kitosan dalam Sediaan Gel**

Pengumpulan data dilakukan setelah perlakuan (*Post test*). Setelah dilakukan pembuatan luka bakar derajat II A, maka diberikan masing-masing kelompok tikus menggunakan gel kitosan dengan berbagai konsentrasi. Perawatan luka dilakukan pada masing-masing sampel setiap hari hingga hari ke-21. Pengukuran luas area dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan yaitu pada hari ke-0 setelah tikus diberi luka bakar derajat II A yang digunakan sebagai luas area luka sebelum diberi perlakuan kemudian luka diukur pada hari ke-7, ke-14 dan ke-21 baik pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol untuk melihat proses kontraksi luka.

#### **4.8 Analisa Statistika**

Untuk mengetahui efek kitosan terhadap kontraksi luka pada perawatan luka bakar derakat IIA maka perlu dilakukan pengujian statistik untuk mengambil

kesimpulan. Hasil pengukuran distribusi kecepatan penyembuhan luka bakar dengan gel kitosan pada tikus kontrol dan perlakuan dianalisis secara statistik dengan menggunakan program SPSS 16.0 for Windows dengan tingkat signifikansi 0,05 ( $p = 0,05$ ) dan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ). Analisis data statistik yang digunakan adalah *One Way* ANOVA dan Post Hoc. Untuk menilai tingkat kemaknaan dan menguji hipotesa digunakan uji ANOVA (Sugiyono,2003). Karena uji hipotesis *One Way* ANOVA mempersyaratkan data harus berdistribusi normal, maka sebelum dilakukan uji *One Way* ANOVA dilakukan uji normalitas data dan uji homogenitas varian.

#### 4.8.1 Uji Normalitas dan Homogenitas

Sebelum melakukan analisis data dengan menggunakan ANOVA, maka diperlukan pemenuhan atas beberapa asumsi data, yaitu data harus mempunyai sebaran (distribusi) normal dan mempunyai ragam yang homogen. Untuk menguji apakah sampel penelitian merupakan jenis distribusi normal maka digunakan pengujian *Kolmogorov-Smirnov Goodness of Fit Test* terhadap masing-masing variabel. Dari hasil yang sudah didapat menunjukkan nilai signifikan di atas 0,05 dapat disimpulkan bahwa data variabel tersebut menyebar mengikuti sebaran normal (Perdana, 2012). Untuk mendeteksi ada atau tidaknya heterogenitas dilakukan dengan menggunakan uji kesamaan ragam yaitu uji Levene (*Levene Test Homogeneity of Variances*) (Santoso, 2002). Uji normalitas menggunakan uji Shapiro Wilk dengan  $\alpha = 0,05$ . Jika didapatkan data menunjukkan  $p$  value  $> 0,05$ , maka data terdistribusi normal.

#### 4.8.2 Uji *One Way* ANOVA

Data hasil penelitian kemudian dianalisis dengan *One Way* ANOVA untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok uji coba. Jika signifikansi  $< \alpha$  (0,05), maka terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kontraksi luka pada luka bakar derajat IIA antar kelompok uji coba.

#### 4.8.3 Uji Perbandingan Berganda (*Post Hoc Test*)

Uji perbandingan berganda (*Post Hoc Test*) merupakan metode pengujian lanjutan apabila hasil pengujian ANOVA terdapat nilai beda atau ketidaksamaan nilai tengah pada data yang diujikan. Metode ini berfungsi untuk mengetahui nilai tengah mana yang memiliki perbedaan yang signifikan. Biasanya dilakukan dengan melihat besar variasi dari tiap kombinasi perbandingan nilai tengah yang diamati (Binus, 2009). Nilai signifikansi antar kelompok yang paling bermakna adalah yang memiliki nilai signifikansi paling kecil (Sugiyono, 2011).

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik dari gel kitosan dan pengaruhnya terhadap penyembuhan luka bakar derajat IIA padatikus putih (*Rattus novergicus*) galur wistar. Karakteristik gel kitosan yang dilakukan meliputi uji organoleptis (bentuk, warna dan bau), homogenitas, pH sediaan, daya sebar, viskositas dan stabilitas. Penelitian ini merupakan penelitian true eksperimental yang terdiri dari 6 kelompok, yaitu 3 kelompok kontrol menggunakan bioplasenton, normal salin 0,9% dan gel tanpa kitosan. Kelompok perlakuan terdiri dari 3 kelompok diberikan terapi secara topikal menggunakan gel kitosan dengan dosis 1,25%, 2,5%, dan 3,75%. Tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus putih dengan berat 150-200gram. Perawatan dilakukan setiap hari dari hari ke-1 hingga hari ke-21. Data penelitian didapatkan dengan melakukan pengukuran kontraksi luka pada luka bakar menggunakan penggaris dan kamera 14Mpixel. Peningkatan kontraksi luka di ukur pada hari ke-7, ke-14, dan ke-21. pada hari-14 dilakukan analisa peningkatan kontraksi luka bakar derajat IIA karena pada hari ke-14 merupakan puncaknya fase proliferasi pada luka bakar derajat IIA (Moenadjat, 2011).

#### 5.1 Optimasi Gel Kitosan dengan Basis HPMC

Dalam penelitian ini dilakukan optimasi kitosan dengan HPMC sebagai pembentuk gel, propilen glikol sebagai humektan, metil dan propil paraben

sebagai pengawet, asam asetat 2% sebagai pelarut kitosan dan aquades sebagai pelarut. Kitosan diformulasikan ke bentuk sediaan gel karena lebih banyak disukai karena bentuk sediaan yang menarik seperti melekat dengan baik, mudah digunakan, mudah meresap dan tidak berminyak mengandung air yang banyak sehingga menimbulkan rasa dingin di kulit. Penggunaan HPMC sebagai *gelling agent* telah diketahui memiliki stabilitas yang baik selama penyimpanan. HPMC stabil pada pH 3 hingga 11, gel yang dihasilkan jernih, bersifat netral, serta viskositasnya yang stabil meski disimpan pada jangka waktu yang lama. HPMC juga tidak mengiritasi kulit dan tidak dimetabolisme oleh tubuh (Arikumalasari *et al.*, 2013).

### 5.1.1 Pembuatan Gel

Bahan aktif dari gel ini adalah kitosan, kemudian kitosan dilarutkan terlebih dahulu dengan menggunakan asam asetat 2% karena kelarutan kitosan yang paling baik ialah dalam larutan asam asetat 2%. (Sugita, 2009). Konsentrasi HPMC yang digunakan pada penelitian ini yaitu konsentrasi 5%, 10% dan 15%. Formula sediaan gel kitosan ditunjukkan pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Formula Optimasi Basis Gel Kitosan

Bahan	Fungsi	Konsentrasi % (b/v) / (v/v)		
		FA	FB	FC
<b>Kitosan</b>	Zat Aktif	2,5	2,5	2,5
<b>HPMC</b>	Basis gel	5	10	15
<b>Metil paraben</b>	Pengawet	0,02	0,02	0,02
<b>Propil paraben</b>	Pengawet	0,18	0,18	0,18
<b>Propilen Glikol</b>	Humektan	15	15	15
<b>Asam Asetat 2%</b>	Solvent	7,5	7,5	7,5
<b>Aquades</b>	Solvent	40	40	40
<b>Buffer Asetat pH 5</b>	Solvent	29,8	24,8	19,8

### 5.1.2 Evaluasi Optimasi Basis Gel Kitosan

Evaluasi gel kitosan dengan variasi basis yang dilakukan adalah uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar, uji viskositas dan uji stabilitas sediaan.

#### 5.1.2.1 Uji Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis sediaan gel dilakukan secara visual meliputi warna, bau, dan konsistensi (Handayani *et al.*, 2012).

Tabel 5.2 Uji Organoleptis Gel Kitosan

	Hasil Uji		
	Warna	Bau	Bentuk
HPMC 5%	Bening	Tidak Berbau	Kental
HPMC 10%	Bening	Khas Kitosan	Kental
HPMC 15%	Bening	Khas Kitosan	Kental

Berdasarkan tabel diatas dapat terlihat bahwa warna yang dihasilkan oleh gel kitosan adalah bening pada konsentrasi 5%, 10%, dan 15% sehingga konsentrasi HPMC tidak mempengaruhi warna dari sediaan. Bau khas (aromatis) berasal dari kitosan yang memiliki bau khas. Pada gel berbentuk kental, berstruktur halus ini dikarenakan pemberian HPMC yang berfungsi sebagai *gelling agent* yang didispersikan pada air (Hasyim, 2010).



Gambar 5.1 Gel Kitosan dengan Variasi Basis

### 5.1.2.2 Uji Homogenitas

Salah satu syarat sediaan gel adalah homogen. Syarat homogenitas tidak boleh mengandung bahan kasar yang bisa diraba (Syamsuni, 2006). Berdasarkan gambar 5.5 dapat dikatakan bahwa semua gel memiliki distribusi yang merata ketika diberi tekanan pada kaca, sehingga semua gel dapat dikatakan memiliki homogenitas yang baik. Hasil uji homogenitas menunjukkan tidak adanya pengaruh variasi konsentrasi HPMC terhadap homogenitas gel. Kitosan berbentuk spesifik dan mengandung gugus amino dalam rantai karbonnya. Hal ini menyebabkan kitosan bermuatan positif yang berlawanan dengan polisakarida lainnya (Rinaudo 2006). Sedangkan HPMC merupakan *gelling agent* yang termasuk ke dalam golongan polisakarida yang bersifat kationik (Gibson, 2001)

### 4.1.2.3 Uji pH

Uji pH dilakukan untuk mengetahui kesesuaian gel dengan pH kulit. Pengujian dilakukan menggunakan pH meter semisolid yang dilengkapi larutan buffer, khusus untuk sediaan semisolid. Data hasil uji pH sediaan gel dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 5.3 Hasil Uji pH Optimasi Basis Gel Kitosan

Replikasi	Konsentrasi Gel		
	HPMC 5%	HPMC 10%	HPMC 15%
<b>I</b>	5,3	5,5	5,4
<b>II</b>	5,4	5,3	5,4
<b>III</b>	5,5	5,4	5,4
<b>Rerata ± SD</b>	5,40 ± 0,07	5,40 ± 0,07	5,40 ± 0,07

Berdasarkan Tabel 5.3 pada setiap masing-masing konsentrasi gel memiliki hasil pH yang sama. Pada sediaan gel kitosan dengan adanya variasi konsentrasi *gelling agent* tidak mempengaruhi perubahan pH. Semua formula

memiliki pH yang sama yaitu 5,4, dalam artian masih dalam range pH normal kulit sehingga bila digunakan akan meningkatkan kenyamanan pada kulit dengan luka bakar. Ini dikarenakan sifat dari HPMC yang netral, tahan terhadap pengaruh asam dan basa sehingga dapat menjaga kestabilan pH gel (Roger, 2009).

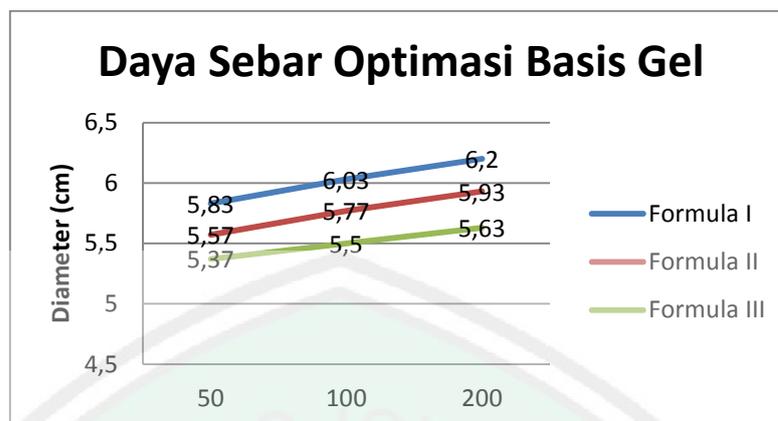
#### 4.1.2.4 Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui persebaran sediaan pada permukaan kulit. Uji ini dilakukan dengan mengambil 1 gram sediaan, kemudian sediaan di beri beban 50 gram, 100 gram dan 150 gram secara berurutan. Data luas sebaran gel dalam variasi beban dapat dilihat pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Diameter Daya Sebar Optimasi Basis Gel Kitosan

Berat Beban (g)	Diameter Daya Sebar (cm)		
	5%	10%	15%
50	5,83 cm	5,57 cm	5,37 cm
100	6,03 cm	5,77 cm	5,5 cm
150	6,2 cm	5,93 cm	5,63 cm

Berdasarkan Tabel 4.4 dapat dilihat bahwa semakin berat beban yang diberikan semakin lebar diameter sebaran sediaan serta dapat dilihat pula semakin besar konsentrasi HPMC pada gel semakin kecil diameter sebaran sediaan. Dapat diinterpretasikan bahwa semakin banyak konsentrasi HPMC yang diberikan, sediaan gel semakin memiliki konsistensi yang lebih kental (Grafik 5.1)



Grafik 5.1 Daya Sebar Optimasi Basis Gel

**Keterangan:**

- FI : Gel dengan HPMC 5%  
 FII : Gel dengan HPMC 10%  
 FIII : Gel dengan HPMC 15%

Dari Grafik 5.1 terlihat bahwa HPMC 5% memiliki daya sebar yang tinggi dibandingkan konsentrasi gel yang lain. Hal ini dikarenakan HPMC merupakan *gelling agent* yang termasuk dalam golongan polisakarida sehingga mudah mengembang dan viskositasnya lebih kecil. Arikumalasari *et al.* (2013) juga mengemukakan jika semakin tinggi konsentrasi HPMC dalam sediaan maka akan semakin meningkat daya lekat sediaan gel. Daya lekat ini berpengaruh pada kemampuan gel melekat pada kulit, jika semakin tinggi maka akan semakin lama gel melekat pada kulit dan efek terapi yang diberikan akan lebih lama. Namun semakin tinggi konsentrasi akan menurunkan daya sebar dari sediaan yang mempengaruhi kenyamanan penggunaan obat. Tingginya konsentrasi HPMC akan meningkatkan viskositas gel, sehingga gel semakin tertahan mengalir dan menyebar pada kulit. Hal ini dapat mempengaruhi kualitas sediaan gel (Arikumalasari *et al.*, 2013). Sifat mudah menyebar karena gel memiliki komponen yang banyak mengandung gugus -OH seperti HPMC dan propilen

glikol. Peningkatan kemampuan menyebar seiring dengan penurunan viskositas sediaan gel. Semakin besar nilai viskositas maka tekanan yang dibutuhkan oleh suatu sediaan untuk menyebar semakin besar. Bila tekanan yang diberikan sama pada setiap pengukuran formula gel maka semakin kental sediaan akan menyebabkan kemampuan menyebarnya semakin kecil. Hal ini dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi HPMC dapat menurunkan daya sebar gel (Teti & Fina, 2011). Hasil analisis statistika *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa pada tingkat kepercayaan 95%, perbedaan konsentrasi memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap diameter daya sebar gel yang dihasilkan. Sebelum dilakukan uji ANOVA maka dilakukan tes lainnya yaitu normalitas dan homogenitas. Pertama adalah tes normalitas, menggunakan *Shapiro-Wilk* karena data  $< 50$ , dan hasil yang diperoleh adalah hasil *p-value* HPMC 5% (1,00), HPMC 10% (0,637) dan HPMC 15% (1,000) yang artinya lebih besar dari 0,05 sehingga diketahui bahwa kelompok data memiliki distribusi normal. Tes selanjutnya adalah tes homogenitas varian pada diameter daya sebar optimasi basis gel kitosan. Pada tes homogenitas varian menggunakan uji statistika Levene, diperoleh hasil *p-value* 0,621 yang artinya lebih besar dari 0,05 sehingga dapat dikatakan setiap kelompok data bersifat homogen atau sama.

Pada uji *One Way ANOVA*, *p-value* dari analisis statistika adalah sebesar 0,003. Nilai ini lebih kecil dari 0,05, sehingga perlu dilakukan uji *Post Hoc*, uji *Post Hoc* yang dilakukan merupakan Uji *Tukey HSD*, untuk menguji semua rata-rata perlakuan. Uji *Post Hoc* ini menyatakan data yang memiliki rata-rata yang berbeda bermakna. Hasilnya menunjukkan bahwa rata-rata yang berbeda secara

bermakna terletak pada konsentrasi HPMC 15%. Sehingga dapat dikatakan semakin tinggi konsentrasi HPMC maka daya Sebar akan menurun, sebaliknya, semakin rendah konsentrasi HPMC maka daya sebar gel akan meningkat.

#### 5.1.2.5 Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan untuk mengetahui mudah tidaknya obat diolesi pada kulit, semakin rendah nilai viskositas maka semakin mudah obat dioleskan pada permukaan kulit. Pengujian dilakukan dengan menggunakan alat viskometer untuk pengujian viskositasediaan gel kitosan. Uji viskositas ini dilakukan dengan menggunakan alat *Brookfield Dial Viscometer* dengan rpm 5 dan cone CP-42. Hasil uji viskositas dapat dilihat dalam Tabel 5.5.

Tabel 5.5 Uji Viskositas Optimasi Gel Kitosan

Replikasi	Viskositas (cps)		
	HPMC 5%	HPMC 10%	HPMC 15%
I	3379	6530	8543
II	3451	5321	8134
III	3345	5532	7667
Rerata ± SD	<b>3391,67 ± 54,12</b>	<b>5794,33 ± 645,78</b>	<b>8114 ± 438,32</b>

Berdasarkan tabel diatas peningkatan viskositas sediaan gel kitosan dipengaruhi oleh kenaikan konsentrasi *gelling agent* HPMC. Hasil analisis statistika *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa pada tingkat kepercayaan 95%, perbedaan konsentrasi memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap viskositas gel yang dihasilkan. Sebelum dilakukan uji ANOVA maka dilakukan tes lainnya yaitu normalitas dan homogenitas. Pertama adalah tes normalitas, menggunakan *Shapiro-Wilk* karena data <50, dan hasil yang diperoleh adalah hasil p-value HPMC 5% (0,617), HPMC 10% (0,312) dan HPMC 15% (0,971) yang artinya lebih besar dari 0,05 sehingga diketahui bahwa kelompok data

memiliki distribusi normal. Tes selanjutnya adalah tes homogenitas varian pada diameter daya sebar optimasi basis gel kitosan. Pada tes homogenitas varian menggunakan uji statistika Levene, diperoleh hasil *p-value* 0,79 yang artinya lebih besar dari 0,05 sehingga dapat dikatakan setiap kelompok data bersifat homogen atau sama.

Pada uji *One Way* ANOVA, *p-value* dari analisis statistika adalah sebesar 0,000. Nilai ini lebih kecil dari 0,05, sehingga perlu dilakukan uji *Post Hoc*, uji *Post Hoc* yang dilakukan merupakan Uji *Tukey* HSD, untuk menguji semua rata-rata perlakuan. Uji *Post Hoc* ini menyatakan data yang memiliki rata-rata yang berbeda bermakna. Hasilnya menunjukkan bahwa rata-rata yang berbeda secara bermakna terletak pada semua HPMC 15%. Sehingga dapat dikatakan semakin tinggi konsentrasi HPMC maka daya Sebar akan menurun, sebaliknya, semakin rendah konsentrasi HPMC maka daya sebar gel akan meningkat.

Pada formula dengan penambahan konsentrasi basis viskositas menjadi meningkat dibanding dengan formula dengan konsentrasi basis yang rendah. Semakin besar konsentrasi HPMC yang digunakan maka sediaan akan semakin kental. Viskositas menyatakan tahanan dari suatu cairan mengalir, semakin tinggi viskositasnya maka semakin besar pula tahanannya (Martin *et al.*, 2008). Hal ini disebabkan viskositas sediaan gel tergantung pada struktur dan berat molekul bahan pembentuk gel yang digunakan. HPMC merupakan polimer turunan selulosa (Gibson, 2001). Menurut Erawati *et al.*, (2005) pada dispersi polimer turunan selulosa, molekul polimer masuk ke dalam rongga yang dibentuk oleh molekul air menyebabkan terjadinya ikatan hidrogen antara gugus hidroksil (-OH)

dari polimer dengan molekul air. Ikatan hidrogen ini berperan dalam hidrasi pada proses *swelling* dari suatu polimer, sehingga peningkatan konsentrasi HPMC menyebabkan gugus hidroksil yang berikatan semakin banyak sehingga viskositas sediaan semakin meningkat. HPMC membentuk gel dengan mengabsorpsi pelarut dan menahan cairan tersebut dengan membentuk massa cair yang kompak. Meningkatnya jumlah HPMC yang digunakan maka akan semakin banyak cairan yang tertahan dan diikat oleh HPMC, berarti viskositas meningkat (Arikumalasari *et al.*, 2013). Nilai viskositas sediaan gel yang baik yaitu 2000-4000 cP (Garg *et al.*, 2002)). Dari data yang diperoleh diatas bahwa gel kitosan dengan konsentrasi 5% memenuhi persyaratan viskositas gel yang baik, sedangkan gel kitosan dengan konsentrasi 10% dan 15% tidak memenuhi persyaratan.

## 5.2 Pembuatan Gel Kitosan

Bahan Aktif dari gel ini adalah kitosan, kemudian ditambahkan beberapa eksipien. *Gelling agent* yang digunakan adalah HPMC 5% yang telah dioptimasi sebelumnya. Pemilihan HPMC dengan konsentrasi 5% karena karakteristik sediaan gel seperti organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, dan viskositas sediaan memenuhi syarat dari sediaan gel. Pada penelitian ini, terdapat terdapat 3 macam gel dengan menggunakan kitosan masing-masing konsentrasi 1,25%, 2,5%, dan 3,75%. Formula sediaan gel kitosan ditunjukkan pada Tabel 5.6.

Tabel 5.6 Formula Gel Kitosan

Bahan	Fungsi	Konsentrasi % (b/v) / (v/v)		
		FA	FB	FC
Kitosan	Zat Aktif	1,25	2,5	3,75
HPMC	Basis gel	5	5	5
Metil paraben	Pengawet	0,02	0,02	0,02
Propil paraben	Pengawet	0,18	0,18	0,18
Propilen Glikol	Humektan	15	15	15
Asam Asetat 2%	Solvent	3,75	7,5	11,25
Aquades	Solvent	40	40	40
Buffer Asetat pH 5	Solvent	34,8	29,8	24,8

## 5.2.1 Evaluasi Sediaan

### 5.2.1.1 Uji Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis sediaan gel dilakukan secara visual meliputi warna, bau, dan konsistensi (Handayani *et al.*, 2012).

Tabel 5.7 Hasil Organoleptis Gel Kitosan

	Hasil Uji		
	Warna	Bau	Bentuk
Gel 1,25%	Bening	Tidak Berbau	Kental
Gel 2,5%	Bening	Khas Kitosan	Kental
Gel 3,75%	Putih Keruh	Khas Kitosan	Kental

Berdasarkan tabel diatas dapat terlihat bahwa warna yang dihasilkan oleh gel kitosan adalah bening pada konsentrasi 1,25% dan 2,5% sedangkan pada konsentrasi 3,75% memiliki warna putih keruh. Warna keruh yang dihasilkan dikarenakan kitosan sendiri memiliki warna keruh setelah dilarutkan dengan asam asetat 2% sehingga semakin tinggi kitosan yang ditambahkan akan menghasilkan warna yang keruh pada gel, bau khas (aromatis) berasal dari kitosan yang memiliki bau khas. Bau khas yang dihasilkan juga disebabkan pencampuran kitosan dengan asam asetat 2% yang menghasilkan bau yang khas.



Gambar 5.2 Organoleptis Gel Kitosan

**Keterangan:**

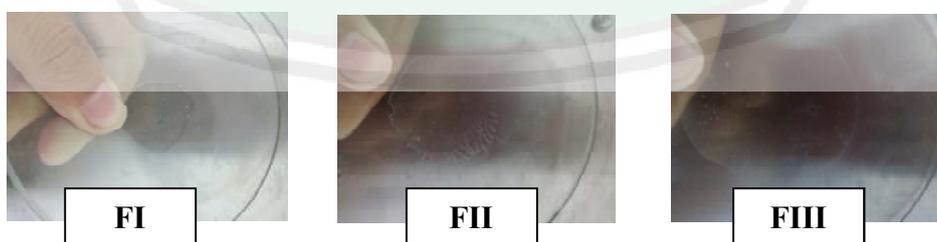
FI : Formulasi gel kitosan 1,25%

FII : Formulasi gel kitosan 2,5%

FIII : Formulasi gel kitosan 3,75%

**5.2.1.2 Uji Homogenitas**

Berdasarkan gambar 5.2 dapat dikatakan bahwa semua gel memiliki distribusi yang merata ketika diberi tekanan pada kaca, sehingga semua gel dapat dikatakan memiliki homogenitas yang baik. Hasil uji homogenitas menunjukkan tidak adanya pengaruh variasi konsentrasi kitosan terhadap homogenitas gel. Kitosan berbentuk spesifik dan mengandung gugus amino dalam rantai karbonnya. Hal ini menyebabkan kitosan bermuatan positif yang berlawanan dengan polisakarida lainnya (Rinaudo, 2006). Sedangkan HPMC merupakan *gelling agent* yang termasuk ke dalam golongan polisakarida yang bersifat kationik (Gibson, 2001)



Gambar 5.3 Homogenitas Gel Kitosan

**Keterangan:**

FI : Formulasi gel kitosan 1,25%

FII : Formulasi gel kitosan 2,5%

FIII : Formulasi gel kitosan 3,75%

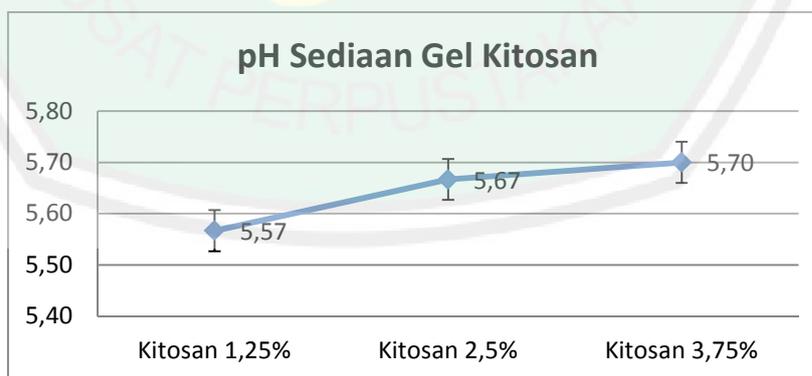
**5.2.1.3 Uji pH**

Uji pH dilakukan untuk mengetahui kesesuaian gel dengan pH kulit. Pengujian dilakukan menggunakan pH meter semisolid yang dilengkapi larutan buffer, khusus untuk sediaan semisolid. Data hasil uji pH sediaan gel dapat dilihat pada tabel 4.8.

Tabel 5.8 Hasil pH Sediaan Gel Kitosan

Replikasi	Konsentrasi Gel		
	Gel 1,25%	Gel 2,5%	Gel 3,75%
I	5,7	5,7	5,7
II	5,6	5,7	5,8
III	5,4	5,6	5,6
Rerata ± SD	5,56 ± 0,10	5,66 ± 0,05	5,72 ± 0,07

Dari tabel diatas ditunjukkan bahwa pada gel dengan menggunakan kitosan 3,75% memiliki pH yang lebih basa (paling tinggi) dibandingkan dengan gel lain.



Grafik 5.2 pH Sediaan Gel Kitosan

Berdasarkan grafik diatas hasil pengujian gel kitosan yang telah dibuat menunjukkan bahwa gel kitosan cenderung memiliki pH asam. Hal ini dikarenakan bahan dasar penyusun gel yang dihasilkan adalah kitosan yang bersifat asam karena dilarutkan menggunakan asam asetat 2%. Semakin tinggi konsentrasi kitosan yang digunakan maka asam asetat 2% yang ditambahkan juga semakin banyak. Perbandingan asam asetat 2% yang digunakan untuk melarutkan kitosan adalah 1:3. Menurut Purwatiningsih *et al.* (2009), kitosan larut pada kebanyakan larutan asam organik pada pH sekitar 4,0, tetapi tidak larut pada pH lebih besar dari 6.5. Selain itu, keberadaan perbedaan derajat deasetilasi kitosan dapat menyebabkan hasil penelitian yang berbeda (Shahidi *et al.*, 1999). pH sediaan yang dikehendaki dalam penelitian ini adalah 4,5-6,5. Hal ini didasarkan pada kenyamanan penggunaan dan syarat pH sediaan dalam range pH kulit 4,5-6,5 (Sudjono *et al.*, 2010). pH tidak boleh terlalu asam karena dapat mengiritasi kulit dan tidak boleh terlalu basa karena dapat membuat kulit menjadi bersisik (Gupta *et al.*, 2010).

Hasil analisis statistika *One Way* ANOVA menunjukkan bahwa pada tingkat kepercayaan 95%, perbedaan konsentrasi kitosan memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap pH gel yang dihasilkan. Sebelum dilakukan uji ANOVA maka dilakukan tes lainnya yaitu normalitas dan homogenitas. Pertama adalah tes normalitas, menggunakan *Shapiro-Wilk* karena data <50, dan hasil yang diperoleh adalah hasil p-value kitosan 1,25% (0,93), kitosan 2,5% (0,473), dan kitosan 3,75% (0,167) yang artinya lebih besar dari 0,05 sehingga diketahui bahwa kelompok data memiliki distribusi normal. Tes selanjutnya adalah tes

homogenitas varian pada diameter daya sebar optimasi basis gel kitosan. Pada tes homogenitas varian menggunakan uji statistika Levene, diperoleh hasil *p-value* 0,402 yang artinya lebih besar dari 0,05 sehingga dapat dikatakan setiap kelompok data bersifat homogen atau sama.

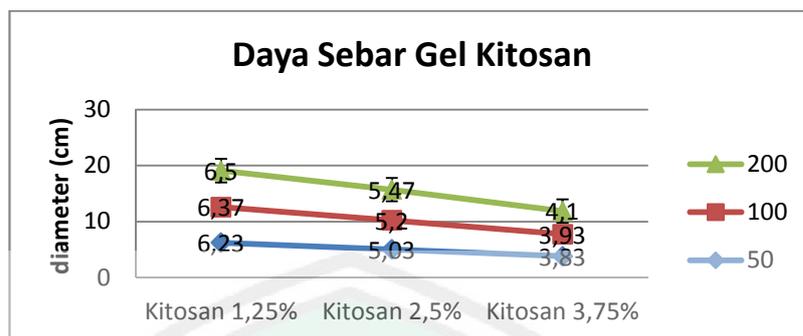
Pada uji *One Way ANOVA*, *p-value* dari analisis statistika adalah sebesar 0,152. Nilai ini lebih besar dari 0,05, sehingga dapat dikatakan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pengaruh penambahan kitosan terhadap pH sediaan gel. Namun dari hasil grafik diatas semakin tinggi konsentrasi kitosan pH sediaan semakin tinggi. Hal ini dikarenakan kitosan bersifat basa sehingga dengan penambahan konsentrasi kitosan sediaan menjadi sedikit basa namun dengan adanya pengenceran kitosan dengan asam asetat 2% dan buffer asetat pH 5 gel kitosan menjadi lebih netral mendekati pH netral.

#### 5.2.1.4 Uji Daya Sebar

Mengacu Dwiastuti (2010), untuk memenuhi syarat sediaan gel yang baik dan dapat diterima konsumen dapat dilihat dari sifat fisik dan stabilitas fisiknya. Sifat fisik yang diukur adalah daya sebar gel dan viskositas gel. Daya sebar yang baik menjamin pemerataan gel saat diaplikasikan pada kulit. Data luas sebaran gel dalam variasi beban dapat dilihat pada tabel 5.9.

Tabel 5.9 Daya Sebar Gel Kitosan

Berat Beban (g)	Daya Sebar (cm)		
	1,25%	2,5%	3,75%
50	6,23	5,03	3,83
100	6,37	5,2	3,93
200	6,5	5,47	4,1



Grafik 5.3 Daya Sebar Gel Kitosan

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

Hasil analisis statistika *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa pada tingkat kepercayaan 95%, perbedaan konsentrasi memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap diameter daya sebar gel yang dihasilkan. Sebelum dilakukan uji ANOVA maka dilakukan tes lainnya yaitu normalitas dan homogenitas. Pertama adalah tes normalitas, menggunakan *Shapiro-Wilk* karena data  $< 50$ , dan hasil yang diperoleh adalah hasil *p-value* kitosan 1,25% (1,000), kitosan 2,5% (1,000) dan kitosan 3,75% (1,000) yang artinya lebih besar dari 0,05 sehingga diketahui bahwa kelompok data memiliki distribusi normal. Tes

selanjutnya adalah tes homogenitas varian pada diameter daya sebar optimasi basis gel kitosan. Pada tes homogenitas varian menggunakan uji statistika Levene, diperoleh hasil *p-value*(1,000) yang artinya lebih besar dari 0,05 sehingga dapat dikatakan setiap kelompok data bersifat homogen atau sama.

Pada uji *One Way ANOVA*, *p-value* dari analisis statistika adalah sebesar 0,000. Nilai ini lebih kecil dari 0,05, sehingga perlu dilakukan uji *Post Hoc*, uji *Post Hoc* yang dilakukan merupakan Uji *Tukey HSD*, untuk menguji semua rata-rata perlakuan. Uji *Post Hoc* ini menyatakan data yang memiliki rata-rata yang berbeda bermakna. Hasilnya menunjukkan bahwa rata-rata yang berbeda secara bermakna terletak pada semua gel dengan berbagai konsentrasi. Sehingga dapat dikatakan semakin tinggi konsentrasi kitosan maka daya Sebar akan menurun, sebaliknya, semakin rendah konsentrasi kitosan maka daya sebar gel akan meningkat.

#### 5.2.1.5 Uji Viskositas

Hasil pengukuran viskositas gel kitosan menunjukkan respon viskositas gel pada berbagai konsentrasi kitosan menghasilkan respon viskositas yang berbeda. Hasil viskositas gel kitosan dapat dilihat pada Tabel 5.10.

Tabel 5.10 Hasil Uji Viskositas Gel Kitosan

Replikasi	Viskositas (cps)		
	Gel 1,25%	Gel 2,5%	Gel 3,75%
<b>I</b>	3264	4820	5297
<b>II</b>	2530	3766	5245
<b>III</b>	2293	3676	4297
Rerata ± SD	2695,67 ± 506,26	4087,33 ± 636,10	4946,33 ± 562,94



Grafik 5.4 Viskositas Gel Kitosan

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa fenomena pada respon viskositas gel dengan konsentrasi kitosan yang digunakan. Hasil analisis statistika *One Way* ANOVA menunjukkan pada tingkat kepercayaan 95%, perbedaan konsentrasi kitosan memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap viskositas gel yang dihasilkan (sig. 0,005) yaitu kurang dari 0,05 sehingga dapat dikatakan bahwa Semakin tinggi konsentrasi kitosan maka viskositasnya akan semakin tinggi, sebaliknya, semakin rendah konsentrasi kitosan maka viskositasnya akan menurun. Kekentalan gel kitosan ini juga disebabkan karena kitosan memiliki kemampuan untuk membentuk gel. Kitosan bersifat hidrofilik, menahan air dalam strukturnya dan membentuk gel secara spontan. Pembentukan gel berlangsung pada harga pH asam dan sedikit asam, disebabkan sifat kationik kitosan (Muzzareli, 1983). Kitosan yang memiliki sifat reaktivitas kimia menyebabkan kitosan mampu mengikat air dan minyak. Hal ini didukung oleh adanya gugus polar dan non polar yang dikandungnya. Karena kemampuan itu tersebut, kitosan dapat digunakan sebagai bahan pengental atau pembentuk gel yang sangat baik, pengikat, penstabil, dan pembentuk tekstur. Kitosan memiliki kemampuan yang

sama dengan bahan pembentuk tekstur lain seperti karboksil metil selulosa (CMC) (Tang *et al.*, 2007).

#### 5.2.1.6 Uji Stabilitas Sediaan Gel Kitosan Setelah *Freeze Thaw Cycle*

*Cycling test* merupakan uji stabilitas yang dipercepat sebagai simulasi suhu dalam setiap tahun maupun setiap harinya selama penyimpanan sediaan (Djajadisastra, 2004; Wardiyah 2015). Uji stabilitas *freeze thaw* dilakukan karena pengujian stabilitas suhu ruangan selama 30 hari tidak cukup menggambarkan kestabilan gel kitosan (ICH, 2003). Penyimpanan pada kondisi ekstrim (Suhu *freeze*  $4^0 \pm 2^0\text{C}$  selama 48 jam dan suhu *thaw*  $40^0 \pm 2^0\text{C}$  selama 48 jam mampu menginduksi terjadinya ketidakstabilan lebih cepat daripada penyimpanan pada suhu ruangan (Thanasukarn, 2004). Pengujian dilakukan dengan 7 siklus (14 hari), uji dilakukan sebelum dan sesudah *Cycling test*.

##### 1. Organoleptis setelah *Cycling test*

Pada pengujian stabilitas selama *freeze thaw cycle* secara organoleptis tidak terjadi perubahan baik warna gel, bau dan tekstur dari gel kitosan. Selain itu tidak terjadi pemisahan fase pada gel kitosan. Sebelum *Cycling test* formula I, II, dan III memiliki bau khas kitosan dan asam asetat, yang mana formula III memiliki bau yang menyengat dibandingkan formula I dan II. Hal ini dikarenakan semakin banyak konsentrasi kitosan yang digunakan membuat sediaan semakin berbau khas asam asetat dan kitosan. Setelah dilakukan uji *Cycling test* bau sediaan tidak mengalami perubahan yang signifikan, namun bau dari asam asetat sedikit berkurang dikarenakan asam asetat mempunyai sifat volatil atau menguap. Namun bau dari kitosan tidak mengalami perubahan. Ketiga

formula gel kitosan tidak mengalami sineris, yaitu gejala alamiah pengerutan gel yang disebabkan sebagian cairan keluar. Hal ini terjadi dikarenakan matriks serat gel yang terus mengeras dan mengakibatkan keluarnya air dari gel (Brinker, 1990; Izzati, 2014). Hasil ini menunjukkan bahwa menggunakan gel kitosan dan HPMC mampu menghasilkan gel yang stabil secara organoleptis.

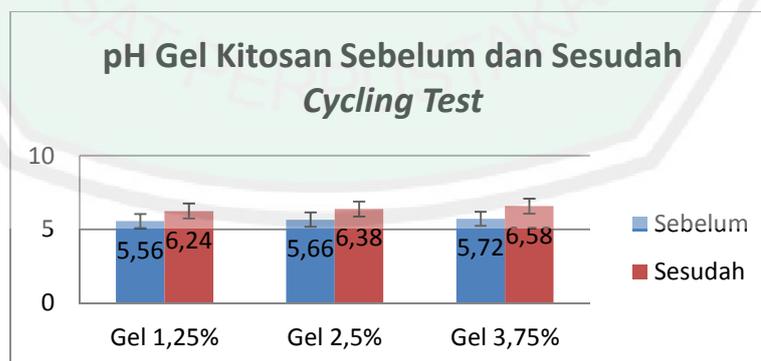
## 2. Homogenitas setelah *Cycling Test*

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

## 3. pH setelah *Cycling Test*

Tabel 5.11 pH Kitosan Setelah *Cycling test*

Replikasi	Konsentrasi Gel		
	Gel 1,25%	Gel 2,5%	Gel 3,75%
I	6,1	6,4	6,5
II	6,2	6,5	6,7
III	6,3	6,3	6,6
Rerata ± SD	6,24 ±0,09	6,38 ±0,08	6,58 ±0,08

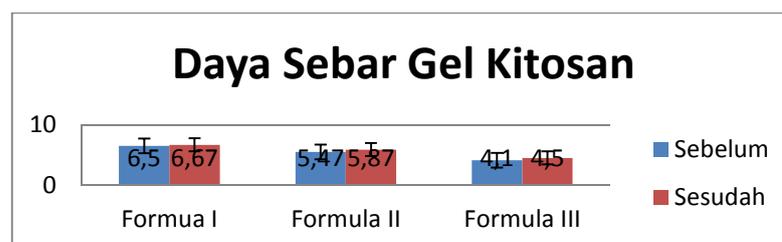


Grafik 5.5 Stabilitas pH Gel Kitosan

Berdasarkan grafik diatas menunjukkan bahwa pH sediaan kitosan mengalami perubahan menjadi basa setelah dilakukan *Cycling Test*. Hal ini disebabkan karena kadar asam asetat 2% dan buffer asetat mengalami penguapan selama penyimpanan sehingga menyebabkan pH sediaan menjadi meningkat mendekati pH netral (Rahman, 2012). Perubahan pH sediaan gel kitosan ini masih dalam rentang syarat sediaan yang baik yaitu 4,5-6,5 (Tranggono dkk.,2007). Namun pada sediaan kitosan 3,75% perubahan pH yang dihasilkan melebihi rentang sediaan yang baik dikarenakan kadar kitosan yang terlalu tinggi dan asam asetat yang digunakan juga banyak sehingga penguapan asam asetat juga tinggi. Hasil uji statistika SPSS menggunakan *paired sample t-test* dengan tingkat kepercayaan 95% menghasilkan *p-value* (0,000) yaitu kurang dari 0,05 yang menandakan adanya perbedaan yang signifikan antara pH sebelum *Cycling Test* dengan setelah *Cycling Test*.

#### 4. Daya Sebar setelah *Cycling Test*

Hasil pengukuran daya sebar gel kitosan setelah uji *Cycling test* menunjukkan respon daya sebar pada berbagai konsentrasi kitosan menghasilkan respon daya sebar yang berbeda. Grafik hubungan antara berbagai kitosan terhadap daya sebar gel sebelum dan setelah *Cycling Test* dapat dilihat pada Grafik 5.6.



Grafik 5.6 Daya Sebar Gel Kitosan Sebelum dan setelah *Cycling Test*

**Keterangan:**

FI : Formulasi gel kitosan 1,25%

FII : Formulasi gel kitosan 2,5%

FIII : Formulasi gel kitosan 3,75%

Berdasarkan grafik diatas dapat dilihat bahwa, perbedaan tinggi dan rendahnya konsentrasi kitosan memberikan pengaruh terhadap daya sebar gel. Pada konsentrasi kitosan yang lebih tinggi respon daya sebar mengalami penurunan, maupun sebaliknya. lama penyimpanan mempengaruhi daya sebar gel, semakin lama penyimpanan maka daya sebar gel menjadi meningkat, daya sebar yang tinggi dikarenakan oleh suhu dan kemasan yang kurang kedap sehingga gel menyerap uap air dari luar dan menambah volume air dalam gel. Penambahan bahan-bahan lain seperti propilen glikol yang konsistensinya cair, dapat meningkatkan viskositas sediaan gel dan meningkatkan daya sebar gel (Rahman, 2012). Daya sebar gel kitosan pada formula III tidak memenuhi persyaratan karena pada formula III daya sebar gel yang dihasilkan kurang dari 5 cm. Sedangkan pada Formula I dan II memenuhi persyaratan gel yaitu masih dalam rentang 5-7 cm. Sediaan yang memiliki viskositas rendah (lebih encer) seperti pada formula III menghasilkan diameter penyebaran yang lebih besar karena lebih mudah mengalir. Gel dari kitosan memiliki konsistensi yang kental sehingga lebih sulit mengalir (Erawati, 2005). Hasil uji statistika SPSS dengan menggunakan *paired sample t-test* dengan tingkat kepercayaan 95% menghasilkan *p-value* (0,00) yaitu kurang dari 0,05 yang menandakan adanya perbedaan yang signifikan antara daya sebar sebelum *Cycling Test* dengan setelah *Cycling Test*.

## 5. Viskositas setelah *Cycling Test*

Tabel 5.12 Viskositas Gel Kitosan setelah *Cycling test*

Replikasi	Viskositas (cps)		
	Gel 1,25%	Gel 2,5%	Gel 3,75%
I	3213	4143	5227
II	2182	3410	5190
III	2256	3402	4183
Rerata ± SD	2550,33 ± 575,08	3718,33 ± 540,99	4866,67 ± 592,36



Grafik 5.7 Stabilitas Viskositas Gel Kitosan

### Keterangan:

- FI : Formulasi gel kitosan 1,25%  
 FII : Formulasi gel kitosan 2,5%  
 FIII : Formulasi gel kitosan 3,75%

Berdasarkan grafik diatas dapat dilihat bahwa, fenomena pada respon viskositas gel berbanding terbalik dengan daya sebar gel. Terlihat adanya penurunan nilai viskositas gel sebelum dan sesudah uji *Cycling Test*. Penurunan dikarenakan pengaruh tingkat kekentalan sediaan gel yang dihasilkan. Selain itu, penuruanan viskositas gel juga dioengaruhi kondisi lingkungan penyimpanan misal kelembapan udara. Faktor lingkungan yang lembab merupakan faktor yang memberikan pengaruh besar terhadap nilai kandungan air dalam kitosan karena kitosan memiliki sifat yang mudah menyerap air, sehingga apabila kitosan terlalu lama dalam penyimpanan dan berada pada kondisi yang lembab dan maka

jumlah kadar air kitosan menjadi semakin meningkat dan menyebabkan viskositasnya semakin menurun (Kumar, 2000). Selain itu, kemasan yang kurang kedap dapat menyebabkan gel menyerap uap air dari luar sehingga menambah volume air dalam gel (Wathoni *et al.*, 2009). Hasil uji statistika SPSS dengan menggunakan *paired sample t-test* dengan tingkat kepercayaan 95% menghasilkan *p-value* (0,02) yaitu kurang dari 0,05 yang menandakan adanya perbedaan yang signifikan antara viskositas sebelum *cycling test* dengan setelah *cycling test*.

Perubahan kekentalan gel merupakan indikator ketidakstabilan sediaan gel selama penyimpanan. Stabilitas fisik dilihat dari perubahan viskositas gel selama penyimpanan. Grafik hubungan antara berbagai konsentrasi kitosan terhadap perubahan viskositas gel dapat dilihat pada Grafik 5.8.



Grafik 5.8 Stabilitas Viskositas Gel Kitosan

Berdasarkan grafik diatas dapat dilihat bahwa perbedaan konsentrasi kitosan memberikan pengaruh terhadap perubahan viskositas gel yang dihasilkan. Secara kuantitatif, besar efek perbedaan konsentrasi kitosan (1,25%, 2,5%, dan 3,75%) terhadap perubahan viskositas gel secara berturut-turut yaitu sebesar 4,05%, 4,31%, dan 4,43%. Pada konsentrasi kitosan yang lebih tinggi respon perubahan viskositas gel mengalami peningkatan. Sebaliknya, pada konsentrasi kitosan yang rendah respon perubahan viskositas mengalami penurunan.

Besarnya perubahan viskositas dihitung dengan rumus: (Young, 2002)

$$\Delta\eta(\%) = \frac{\eta_t - \eta_0}{\eta_0}$$

**Keterangan :**

$\eta_t$  : Nilai viskositas sebelum *Cycling test*

$\eta_0$  : Nilai viskositas sesudah *Cycling test*

Perubahan viskositas sediaan gel merupakan indikator ketidakstabilan sediaan selama penyimpanan. Perubahan viskositas sediaan dari waktu ke waktu perlu menjadi perhatian utama, karena viskositas merupakan hal penting dalam mempengaruhi stabilitas dan karakteristik sediaan (Anggraeni, 2008). Faktor dominan yang bertanggung jawab dalam perubahan viskositas selama penyimpanan antara lain bahan yang dapat meningkatkan viskositas atau interaksi bahan tersebut dengan sistem dispersi (Zats *et al.*, 1996). Semakin tinggi konsentrasi kitosan, maka perubahan viskositas akan semakin meningkat atau tidak stabil dan sebaliknya, semakin rendah konsentrasi kitosan maka perubahan viskositas gel akan semakin menurun atau stabil (Dwiastuti, 2010). Gel tidak mengalami perubahan viskositas yang cukup besar antara viskositas awal dan setelah uji *cycling test*.

### 5.3 Uji Aktivitas Gel Kitosan secara *In Vivo*

Uji aktivitas gel kitosan secara *In vivo* bertujuan untuk mengetahui kemampuan sediaan gel kitosan terhadap peningkatan kontraksi luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar. Penentuan konsentrasi kitosan dalam sediaan gel bertujuan untuk mengetahui konsentrasi kitosan yang

tepat dalam pembuatan sediaan gel luka bakar. Mencari suatu kadar yang tepat dalam ilmu pengobatan, merupakan salah satu tujuan penelitian dalam mempelajari salah satu fenomena kehidupan. Selain itu, segala sesuatu harus digunakan sesuai ukuran atau kadarnya. Hal ini dijelaskan oleh firman Allah SWT dalam QS. Al-Furqan ayat 2 yang berbunyi sebagai berikut:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُن لَّهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

*Artinya: yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan (Nya), dan Dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan seserapi-rapinya (25: 2).*

Menurut tafsir Al-Aisar kalimat أفقده تقديره bermakna bahwa Allah SWT. menetapkan suatu ukuran dengan serapi-rapinya tanpa ada kesalahan di dalamnya, tidak perlu penambahan atau pengurangan, semua ukuran yang telah ditetapkan oleh Allah SWT itu merupakan kemaslahatan bagi manusia (Al-Jazairi, 2008). Berdasarkan tafsir ayat tersebut, Allah SWT telah menetapkan segala sesuatu ukuran dengan serapi-rapinya untuk dimanfaatkan oleh manusia. Seperti halnya penentuan konsentrasi kitosan yang tepat dalam sediaan gel yang diharapkan sediaan gel kitosan memiliki kemampuan untuk mempercepat penyembuhan luka bakar derajat IIA secara efektif.

Kitosan dipilih dalam penelitian ini karena pada bidang kesehatan kitosan digunakan sebagai agen antiobesitas, antibakteria, antiperdarahan dan penyembuhan luka. Kitosan diteliti mampu memacu proliferasi sel, meningkatkan

kolagenisasi dan mengakselerasi regenerasi sel (reepitelisasi) pada kulit terluka (Shelma, 2008).

Penelitian ini merupakan penelitian true eksperimental yang terdiri dari 30 ekor tikus jantan yang terbagi dalam 6 kelompok, yaitu 2 kelompok kontrol menggunakan NS 0,9% dan Bioplasenton dan 3 kelompok perlakuan diberikan terapi secara topikal menggunakan gel kitosan dengan dosis 0%, 1,25%, 2,5%, dan 3,75%. Pada penelitian ini, pengamatan terhadap penyembuhan luka dilakukan dengan mengobservasi indikator-indikator penyembuhan luka, yaitu penutupan tepi luka atau kontraksi luka. Kontraksi luka merupakan salah satu mekanisme penyembuhan luka yang ditandai dengan penyempitan luas area luka. Kontraksi luka dimulai pada fase proliferasi luka. Fase penyembuhan luka khususnya fase proliferasi yang memanjang dan berlangsung lama akan mengakibatkan jaringan parut hipertrofik (Moenadjat, 2011). Perawatan dilakukan setiap hari selama 21 hari. Pengukuran kontraksi luka dilakukan pada hari ke-7, ke-14 dan ke-21. Pada hari ke-14 dilakukan analisa peningkatan kontraksi luka bakar derajat IIA karena pada hari ke-14 merupakan puncaknya fase proliferasi pada luka bakar derajat IIA (Moenadjat, 2011).

Data penelitian didapatkan dengan cara pengamatan secara mikroskopis terhadap kontraksi luka. Pengamatan peningkatan kontraksi luka dilakukan dengan cara diukur dengan penggaris sebagai skala ukur lalu difoto dengan kamera. Hasil foto akan dianalisis menggunakan software Image J untuk mendapatkan presisi luas luka selanjutnya dihitung dengan menggunakan rumus presentase kontraksi luka.

### 5.3.1 Hasil Induksi Luka Bakar Derajat IIA dan Luas Luka Hari ke-0

Sampel tikus yang digunakan untuk penelitian dibius terlebih dahulu dengan kombinasi xylazin dan ketamin (1:2) agar tikus tidak merasakan sakit saat diberikan luka bakar. Ketamin merupakan jenis obat anestesi yang dapat digunakan pada hampir semua jenis hewan (Hall dan Clarke, 1983). Ketamin dapat menimbulkan efek yang membahayakan, yaitu takikardia, hipersalivasi, meningkatkan ketegangan otot, nyeri pada tempat penyuntikan, dan bila berlebihan dosis akan menyebabkan pemulihan berjalan lamban bahkan membahayakan (Jones *et al.*, 1997). Efek samping yang tidak diharapkan dari suatu pembiusan ini dapat diatasi dengan cara mengkombinasikan obat-obatan (Sardjana dan Kusumawati, 2004). Kombinasi yang paling sering digunakan adalah ketamin dan xylazine (Sektari dan Misaco, 2001). Kedua obat ini merupakan agen kombinasi yang saling melengkapi antara efek analgesik dan relaksasi otot, ketamin memberikan efek analgesik sedangkan xylazine menyebabkan relaksasi otot yang baik (Walter, 1985).

Selanjutnya kulit punggung tikus sebelah kanan dicukur rambutnya hingga kulit tikus terlihat. Adanya bulu pada tikus akan menghalangi proses terbentuknya luka bakar. Kulit tikus diinduksi luka bakar dengan menggunakan koin logam panas hingga terbentuk bula. Pengamatan luas luka hari ke-0 menggunakan penggaris dan kamera digital 14 *Mpixel* dengan jarak 15 cm dari area luka. Hasil induksi luka bakar derajat IIA selanjutnya dilakukan penghitungan luas luka pada hari ke-0 dengan software Image J.



Gambar 5.4 Luka Bakar Hari ke-0

Berikut adalah hasil luas luka bakar derajat IIA pada tikus hari ke-0:

Tabel 5.13 Luas Luka Hari ke-0

Perlakuan	Luas luka (cm)				
	1	2	3	4	5
<b>Bioplasenton</b>	8,585	8,345	8,245	8,120	8,440
<b>NaCl 0,9%</b>	8,795	9,339	10,314	10,702	10,670
<b>Kitosan 0%</b>	8,568	8,340	8,680	8,456	8,568
<b>Kitosan 1,25%</b>	8,230	8,678	8,530	8,350	8,600
<b>Kitosan 2,5%</b>	8,570	8,340	8,470	8,550	8,580
<b>Kitosan 3,75%</b>	8,685	8,670	8,650	8,760	8,540

Uji statistika yang digunakan yang pertama adalah normalitas untuk mengetahui apakah sebaran data luas luka hari ke-0 terdistribusi normal. Uji dilakukan dengan uji Shapiro-wilk dengan menggunakan  $\alpha = 0,05$ . Pada tabel hasil uji menghasilkan  $p\text{-value} \geq 0,05$  pada semua kelompok coba, sehingga data terdistribusi normal. Selanjutnya uji homogenitas digunakan untuk mengetahui jenis keragaman data. Uji homogenitas luas luka hari ke-0 menggunakan uji Levenne yang menunjukkan  $p\text{-value}(0,253)$  yang lebih besar dari 0,05, sehingga data terdistribusi homogen.

### 5.3.2 Luas Area Kontraksi Luka Bakar Derajat IIA Hari ke-7, Hari-14 dan Hari ke-21

Proses kontraksi luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dianalisa pada hari ke-7, hari ke-14 dan hari ke-21. Untuk mengetahui perbedaan gambar kontraksi luka pada hari ke-7, ke-14 dan ke-14 yang diberikan gel kitosan ditunjukkan pada gambar 5.5.



Gambar 5.5 Perbedaan kontraksi Luka Bakar Derajat IIA

- A:** Kontraksi Luka Derajat IIA hari ke-7 ditandai dengan luka mengering, terbentuk keropeng tepi luka mengeras.
- B:** Kontraksi Luka Derajat IIA hari ke-14 ditandai dengan luka mengering, keropeng lepas, terjadi granulasi, luas luka mengecil
- C:** Kontraksi Luka Derajat IIA hari ke-21 ditandai dengan luka menutup sempurna

Berdasarkan gambar kontraksi luka yang diberikan gel kitosan pada hari ke-7, ke-14 sampai hari ke-21 mengalami penyembuhan luka dengan ukuran luka semakin mengecil, keropeng lepas, terjadi granulasi dan epitelisasi sampai luka menutup yang menunjukkan telah terjadi proses peningkatan kontraksi luka.

Tabel 5.14 Diameter Luka Bakar (cm)

Perlakuan	Hari ke-		
	7	14	21
<b>Bioplasenton</b>	4,99	3,18	1,9
<b>NaCl 0,9%</b>	9,490	8,960	8,590
<b>Kitosan 0%</b>	8,120	5,470	3,190
<b>Kitosan 1,25%</b>	5,51	2,49	1,55
<b>Kitosan 2,5%</b>	4,670	2,130	1,150
<b>Kitosan 3,75%</b>	6,560	5,320	4,190

Tabel 5.15 Persentase Kontraksi Luka Bakar (%)

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

Hasil tabel diatas menunjukkan rerata luas kontraksi luka paling rendah adalah pada kelompok perawatan dengan NaCl 0,9%, sedangkan rerata luas kontraksi paling tinggi pada kelompok perlakuan gel kitosan 2,5%. Hasil uji statistika yaitu uji normalitas dilakukan dengan *Shapiro-WilkTest* dan menggunakan  $\alpha = 0,05$ . Pada tabel hasil uji menghasilkan nilai signifikan  $\geq 0,05$  pada semua kelompok coba, sehingga data kontraksi luka pada kelompok coba terdistribusi normal. Uji homogenitas diperoleh nilai signifikan sebesar  $\geq 0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa data terdistribusi homogen. Pada uji *One Way ANOVA* kontraksi luka hari ke-7 , ke-14 dan hari ke-21 menghasilkan *p-value* 0,000 yang kurang dari 0,05 pada tingkat kepercayaan 95% sehingga terdapat perbedaan secara signifikan kontraksi luka antara kelompok coba pada semua

perlakuan. Berdasarkan hasil presentase kontraksi luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*), seluruh perlakuan pada tabel 5.14 menunjukkan hasil yang bervariasi. Kelompok kitosan 1,25% dan 2,5% menunjukkan hasil presentase kontraksi luka bakar yang lebih tinggi dibandingkan kontrol positif. Melalui data tersebut dapat disimpulkan bahwa bahan aktif kitosan mempunyai pengaruh terhadap peningkatan kontraksi luka bakar.



Gambar 5.6 Diameter Luka Bakar Derajat IIA Hari ke-21

**Keterangan:**

- A : Perlakuan kontrol positif (Bioplasenton)
- B : Perlakuan kontrol negatif (NaCl 0,9%)
- C : Perlakuan gel kitosan 0%
- D : Perlakuan gel kitosan 1,25%
- E : Perlakuan gel kitosan 2,5%
- F : Perlakuan gel kitosan 3,75%

### **5.3.3 Pengaruh Pemberian Gel Kitosan Secara Topikal dengan Berbagai Konsentrasi terhadap Kontraksi Luka pada kulit dalam Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIA**

Penelitian ini menggunakan 4 dosis kitosan yang berbeda. Dosis ini didapatkan dari studi pendahuluan. Menurut hasil studi pendahuluan dosis kitosan 2,5% merupakan hasil yang paling baik dalam penyembuhan luka terbuka (Putri dkk., 2012). Dosis 0%, 1,25%, dan 3,75 diambil dari setengah dosis dibawah dan diatas dosis optimal berdasarkan uji pendahuluan.

Kontrol positif dalam penelitian ini adalah bioplasenton. Bioplasenton mengandung placenta extract dan *neomycin sulfata*. Kombinasi ini merupakan bagian dari perawatan luka yang sangat efektif. *Placenta extract* sebagai “*biogenic stimulator*” memegang peranan penting dalam mempercepat regenerasi sel dan penyembuhan luka. Sedangkan *neomycin sulfata* bekerja sebagai antibiotik yang mampu membunuh beragam jenis kuman dengan daya kerja yang tidak terganggu oleh nanah. Selain memberikan rasa sejuk, bioplasenton juga aman digunakan dan mudah didapat (Wirastuti, 2016).

Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah NaCl 0,9% dan kontrol pembanding yang digunakan yaitu basis gel. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa yang memberikan efek penyembuhan luka bakar adalah kitosan. Normal salin digunakan sebagai kontrol negatif dalam penelitian ini karena secara umum penatalaksanaan luka bakar menggunakan normal salin (Nurdiana *et al.*, 2008). Selain itu normal saline merupakan cairan isotonis yang

sering digunakan dirumah sakit sebagai perawatan konvensional untuk perawatan irigasi luka pembersih luka dan hidrasi luka (Alexander, 2010).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan hasil uji One Way Anova terhadap gel kitosan 1,25%, 2,5% dan 3,75% menghasilkan  $p\text{-value } (0,000) \leq \alpha (0,05)$ . Sehingga dapat dikatakan bahwa gel kitosan 1,25%, 2,5% dan 3,75% mempunyai efek yang signifikan terhadap peningkatan kontraksi luka bakar derajat IIA. Setelah dilakukan uji berganda menggunakan Uji *Post Hoc* metode *Tukey* HSD dengan tingkat kepercayaan 95% untuk menunjukkan kelompok mana yang mempunyai perbedaan satu sama lain. Uji *Post Hoc* ini dilakukan pada analisa Anova yang telah menyingkirkan  $H_0$  dan menerima  $H_1$  (Dahlan, 2004).

Tabel 5.16 Hasil Perbandingan antar Kelompok Perlakuan dengan *Tukey* HSD Hari ke-21

	Positif	Negatif	F 1	F 2	F 3	F 4
Positif		BB	BB	BTB	BTB	BB
Negatif	BB		BB	BB	BB	BB
F 1	BB	BB		BB	BB	BTB
F 2	BTB	BB	BB		BTB	BB
F 3	BTB	BB	BB	BTB		BB
F 4	BB	BB	BB	BB	BB	

**Keterangan:**

- Positif : Gel Bioplasenton
- Negatif : NaCl 0,9%
- F1 : Gel Kitosan 0%
- F2 : Gel Kitosan 1,25%
- F3 : Gel Kitosan 2,5%
- F4 : Gel Kitosan 3,75%
- BTB : Berbeda tidak bermakna
- BB : Berbeda bermakna

Tabel 5.16 menunjukkan beberapa hasil oleh pengolahan statistika data penelitian ini berdasarkan diameter luka pada tikus. Pada kontrol positif, F1, F1, F3 dan F4 dengan kontrol negatif menunjukkan nilai *p-value* (0,00) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan sehingga, kontrol positif, F1,F2,F3 dan F4 dapat membantu penurunan diameter luka dan meningkatkan kontraksi luka. Perbandingan rata-rata kontraksi luka antara F3 dan F2 dengan kelompok positif tidak berbeda secara signifikan dengan *p-value*  $\geq 0,05$ . Adanya perbedaan signifikan antara F1 dengan Kontrol positif, F1 dengan F4 dan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara F2 dan F3 menunjukkan bahwa gel kitosan 1,25% dan gel kitosan 2,5% memiliki pengaruh yang sama bagus dengan Bioplasenton dalam meningkatkan kontraksi luka bakar. Tidak adanya perbedaan signifikan antara F2 dengan F3 dan adanya perbedaan signifikan antara F1 dengan F2 menunjukkan bahwa gel kitosan 1,25% dan 2,5% lebih bagus daripada gel kitosan 3,75% dalam meningkatkan kontraksi luka bakar.

Hasil rata-rata kontraksi luka pada kelompok gel kitosan 1,25% dan 2,5% mengalami peningkatan dari hari ke-7 sampai hari ke-21. Peningkatan kontraksi luka menunjukkan luka sembuh dengan kriteria luka semakin mengecil, keropeng mengelupas, muncul granulasi dan terjadi epitelisasi. Kontraksi luka terjadi secara stimulan dengan epitelisasi (Potter dan Perry, 2005). Rata-rata presentase kontraksi gel kitosan 3,75% lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif. Hasil presentase kontraksi luka bakar pada hari ke- 21 gel kitosan 2,5% memiliki presentase yang lebih tinggi daripada kontrol positif (bioplasenton) dan gel kitosan 1,25%. Konsentrasi gel kitosan 2,5% memberikan pengaruh yang paling

efektif dalam meningkatkan proses kontraksi luka. Hal ini diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Wardono (2012) tentang pengaruh salep kitosan secara topikal terhadap penyembuhan luka bakar kimiawi pada kulit *Rattus norvegicus* konsentrasi 1,25%, 2,5% dan 3,75%. Dosis topikal 2,5% adalah pertemuan dosis paling optimum pada kombinasi kemampuan penetralan asam-basa dan kemampuan memacu jalur-jalur penyembuhan pada luka bakar kimiawi (Wardono, 2012).

Kemampuan kitosan 2,5% yang lebih baik daripada gel kitosan 1,25% dikarenakan gel kitosan 1,25% mempunyai kemampuan menetralkan luka pada fase awal yang kurang dibanding kitosan 2,5%, karena prinsipnya semakin tinggi kadar yang bersifat basa (kitosan) maka semakin tinggi sifat basa pada gel tersebut. Luka yang sangat lebar pada gel kitosan 1,25% menjadikan penyembuhan lukanya lebih lama dan lebih lambat dalam kenaikan presentase penyembuhan luka dibandingkan kitosan 2,5% yang lebih kecil lukanya pada fase awal. Kemampuan kitosan 2,5% persen yang lebih baik daripada gel kitosan 5% adalah kemungkinan karena kadar kitosan yang terkandung dalam gel kitosan 5% terlalu tinggi sehingga kurang mampu untuk memacu berbagai proses dalam jalur penyembuhan luka. Sesuai penelitian sebelumnya bahwa kitosan semakin kecil kadarnya semakin memiliki kemampuan daya sembuh dalam memacu jalur-jalur penyembuhan. Kadar kitosan yang telah diteliti adalah dalam rentang antara 0,1%–5% untuk dosis topikal. Dosis yang lebih kecil pada kitosan 2,5% yang memiliki kemampuan lebih baik dibanding dosis 5% (Chiba, 2006).

Jalur penyembuhan luka bakar pertama adalah menghentikan pada fase awal luka. Ini berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Masami dkk (2002), yang menyatakan bahwa larutan kitosan mampu menghentikan perdarahan secara komplet sehari setelah pembuatan luka dengan menumbuhkan sejumlah besar fibrin pada permukaan luka, dan setelah itu luka dengan cepat akan mengkerut. Kitosan adalah hemostat yang membantu pembekuan darah alami dan memblokir akhir saraf untuk mengurangi nyeri (Shelma, 2008).

Jalur penyembuhan luka yang kedua adalah dengan memacu (akselerator) sel PMN (*polymorphonuclear*) pada fase awal luka (fase inflamasi). Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa mekanisme penyembuhan luka dapat dipercepat oleh kitin dan kitosan dengan memacu aktivitas dan akumulasi sel PMN. Hal ini terjadi karena aktivasi komplemen melalui *alternative pathway* atau jalur alternatif. Pada jalur ini, sejumlah *anaphylatoxins* (C3a dan C5a) akan diproduksi dan mengaktivasi PMN, sel *mononuclear* (MN), dan endotelium. Migrasi PMN dan MN terjadi segera setelah pemberian kitosan pada luka (Minami, 1997). Jalur penyembuhan luka bakar yang ketiga adalah dengan memediasi proses fagositosis atau mengaktivasi makrofag. Kitosan dan derivatnya menginduksi apoptosis pada peritoneal makrofag setelah pemberian *low-molecular solublechitosan*. Kitosan adalah makrofag aktivator yang memediasi fagositosis dan mempercepat penyembuhan luka (Mori, 1998).

Jalur penyembuhan luka bakar yang keempat adalah menstimulasi proliferasi sel (reepitelisasi) dan penyedia matriks non protein untuk pertumbuhan

jaringan. Ketika fase proliferasi seluler yaitu fase terbentuknya granulasi jaringan baru dengan memproduksi kolagen dan protein matriks ekstraseluler yang lain, serta meningkatkan vaskularisasi ke luka untuk memberikan nutrisi yang dibutuhkan oleh sintesis protein. Kitosan menyediakan matrik non protein untuk pertumbuhan jaringan 3D dan mengaktivasi makrofag untuk aktifitas tumorisidal. Kitosan menstimulasi proliferasi sel dan mengorganisasi jaringan *histoarchitectural*. Epitelisasi merupakan pembentukan epitelium diatas permukaan kulit, epitelisasi dari luka melibatkan migrasi sel di pinggir luka dalam jarak kurang dari satu milimeter, luka diepitelisasi lebih dari 48 jam setelah terjadi luka (Jinab, 2006).

Jalur penyembuhan luka bakar yang kelima adalah meningkatkan kolagenisasi, fibroblas dan vaskularisasi (pembuluh darah). Hal ini berdasarkan penelitian Chiba dkk. (2006) yang menyatakan bahwa hewan yang diberi perlakuan *chitosan oligosaccharide* menunjukkan resolusi yang lebih cepat pada pembentukan pembuluh darah baru, induksi fibroblas yang lebih besar, dan berikuit produksi serat kolagen dibandingkan dengan Kontrol (Chiba, 2006). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa proliferasi fibroblas dan peningkatan jumlah kapiler diobservasi pada kelompok kontrol dan perlakuan, namun granulasi jaringan lebih banyak terdapat pada kelompok kitosan. Hasil ini menjelaskan bahwa kitosan sendiri memfasilitasi penyembuhan luka (Mizuno, 2002). Kitosan akan melepas *N-acetyl-b-D-glucosamine* yang menginisiasi proliferasi fibroblast, membantu mengatur deposisi kolagen dan menstimulasi peningkatan level dari sintesis asam hialuronik alami pada luka. Ini

membantu mempercepat penyembuhan luka dan mencegah bekas luka. Pada fase awal proses penyembuhan luka, makrofag mengeluarkan kolagenase dan elastase yang memproduksi kolagen dan melepaskan sitokin (Jinab, 2006). Selanjutnya pada fase remodeling, jaringan granulasi digantikan oleh kolagen dan serat elastik yang membentuk bekas luka (Shelma, 2008). Penelitian Chiba *et al.* (2006), menunjukkan bahwa hewan percobaan yang diberi kitosan memiliki resolusi neovaskularisasi yang lebih memadai, induksi fibroblas yang lebih cepat, dan serat kolagen yang lebih banyak. Hal ini didukung dengan penelitian Masuoka *et al.* (2005), yang menyatakan bahwa kitosan memiliki kemampuan untuk meningkatkan paruh waktu *Basic Fibroblast Growth Factor* dibanding kelompok kontrol dengan cara melindunginya agar tidak terdegradasi oleh panas atau enzim-enzim yang mungkin merusaknya. *Basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF) atau disebut juga FGF-2 adalah salah satu prototipe *Fibroblast Growth Factor* (FGF) yang memiliki pengaruh amat besar terhadap perkembangan jaringan granulasi, proliferasi fibroblas dan angiogenesis (Okamoto, 2003).

## BAB VI

### PENUTUP

#### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan yaitu formulasi dan aktivitas gel kitosan terhadap penyembuhan luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Variasi konsentrasi HPMC sebagai basis gel mempengaruhi viskositas, daya sebar gel, tanpa mempengaruhi organoleptis dan pH sediaan gel. Konsentrasi HPMC yang baik menghasilkan karakteristik gel yang baik adalah HPMC 5%.
2. Variasi konsentrasi kitosan mempengaruhi viskositas, daya sebar, pH, organoleptis dan stabilitas, namun tidak mempengaruhi homogenitas gel. Konsentrasi gel kitosan 1,25% dan 2,5% memenuhi persyaratan gel yang baik.
3. Pemberian gel kitosan dapat meningkatkan proses kontraksi luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar. Perawatan kontraksi luka gel kitosan 1,25% dan 2,5% mampu mempengaruhi presentase penyembuhan luka bakar IIA. Gel kitosan 2,5% memberikan hasil yang optimal dalam menyembuhkan luka bakar dan berbeda signifikan dengan kelompok gel kitosan 3,75%. Perawatan luka bakar gel kitosan 3,75% kurang efektif dalam meningkatkan kontraksi luka.

## 6.2 Saran

1. Peneliti selanjutnya dapat membuat formulasi gel kitosan atau dengan bentuk sediaan yang lebih bisa memberikan kestabilan selama penyimpanan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek samping penggunaan kitosan dalam perawatan luka bakar derajat IIA.
3. Perlu dilakukan penelitian secara mikroskopis sehingga dapat diketahui dengan pasti aktivitas sel dalam proses penyembuhan luka menggunakan kitosan.
4. Pengemasan yang baik dan kedap udara disarankan untuk memberikan kestabilan gel kitosan saat penyimpanan dalam jangka waktu yang lama.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aditya, Pramudya & Pramono,Barii. 2012. Pengaruh Kitosan secara Topikal terhadap Penyembuhan Luka Bakar Kimiawi pada Kulit Rattus norvegicus. *Artikel Penelitian: Mutiara Medika*. Volume 12, Nomor 2: 3-6.
- Al-Maraghi, Ahmad Mushthofa. 1987. Tafsir Al-Maraghi Jilid 7 (Diterjemahkan oleh Musthofa, Achmad). Semarang. CV Toha Putra.
- Al-Jazairi, Syaikh Abu Bakar Jabir. 2007. *Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar*. Jakarta: Darrus Sunnah Press.
- Alexander, M., Corrigan, a, Gorskin, L., Hanskin, J., & Perucca, R. 2010. *Infusion nursing: An evidence based approach* (3rd ed). Missouri: Daunders Elsevier.
- Ama F. Studi Pengaruh Stimulasi Elektrik (ES) pada Proses Percepatan Penyembuhan Luka Kulit Marmut (*Cavia cobaya*). *ITS Paper*. 2012. (Online). <http://digilib.its.ac.id/public/ITS-paper-20126-Paper.pdf>. Diakses 27 November 2016.
- American Burn Association Burn National Burn Respository. 2012. (<http://www.american.org/resources factsheet.php>, diakses 20 November 2016).
- Anggraeni Y. 2008. *Preparaso dan Karakterisasi Film Sambung Silang Kitosan - Tripolifosfat yang Mengandung Aistikosida Sebagai Pembalut Bioaktif Untuk Luka*. Tesis tidak diterbitkan. FMIPA-UI Program Magister Ilmu Kefarmasian.
- Aranaz I, Mengibar M, Harris R, Panos I, Miralles B, Acosta N, *et al*. 2009. Functional Characterization of Chitin and Chitosan. *Curr Chem Biol*. 3:203-30.
- Arikumalasari, J., I GNA, D., & NPAD, W. 2013. Optimasi HPMC sebagai *Gelling agent* dalam Formula Gel Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*. 2(3).
- Betz, C.L. 2009. *Buku saku Keperawatan Pediatri*. Edisi 5. Jakarta: EGC.
- Binus. 2009. *Tinjauan Teori Post Hoc Test*. <http://thesis.binus.ac.id>. Diakses pada tanggal 27 Oktober 2016. Jam 10.00 WIB
- Broughton II, G., Janis, J.E., Attiger, C.E. 2006. *Wound Healing: an overview*. Plastic Reconstruction Surgery 117 (Supplement) : 1eS-32eS.

- Brooks G.F, Butel J.S, Morse S.A. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Diterjemahkan : Bagian Mikrobiologi FK Unair, Jakarta: Salemba Medika.
- Brunner dan Suddarth. 2000. *Keperawatan Medikal Bedah Edisi8 Volume 2*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Carter, J.S., 1997. *Dispensing for Pharmaceutical Student*. Ed 12. Pitman Medical.London.
- Chiba Y, Kamada A, Sugashima S, Taya K, Matsubuchi S, Saito T, et al. Effects of Intravenous Administration of Chitosan Oligosaccharide on The Wound Healing Process of Oral Musocal Injury in Mice. *Ohu University Journal*. Japan; 2006.
- Derrickson, B.H dan Tortora, G.J . 2009. *Principles of Anatomy and Physiology*. Twelfth Edition. Asia: Wiley
- Dai T, Tanaka M, Hamblin MR. Chitosan Preparation For Wounds and Burn: Antimicrobial and Wound Healing Effect. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 9(7), 857-879 (2011).
- Das, S., Haldar, P. K. and Pramanik, G., 2011, Formulation and Evaluation of Herbal Gel Containing Clerodendron infortunatum Leaves Extract. *International Journal Of PharmTech Research*, 3(1), 140-143.
- David, S. 2007. Anatomi dan Fisiologi Penyembuhan Luka. Makalah disajikan dalam *Seminar Kesehatan dengan tema From Caring to Curing, Pause Before You Use Gauz*. Surabaya: Hotel JW Mariot Surabaya. Tanggal 20 November 2016.
- Demling RH, DeSanti. 2006. Partial Thickness Burn: Current Concepts as to Pathogenesis and Treatment. *Advanced Tissue Sciences*, Inc (pamphlet).
- Djajadisastra, J. 2004. *Cosmetic Stability*: Makalah Seminar. Himpunan Ilmuwan Kosmetika Indonesia
- Dwiastuti R. 2010. Pengaruh penambahan cmc (*carboxymethyl cellulose*) sebagai *gelling agent* dan *propilen glikol* sebagai humektan dalam sediaan gel *sunscreen* ekstrak kering polifenol teh hijau (*Camellia sinensis* L). *Jurnal Penelitian*, Vol.13, No.2.
- Erwati, Tristiana, Rosita, N. , Hendropasetyo, W. & Dien R. J., 2005, Pengaruh Jenis Basis Gel Dan Penambahan NaCl (0.5% -b/b) Terhadap Intensitas Echo Gelombang Ultrasonik Sediaan Gel Untuk Pemeriksaan USG (*Acoustic Coupling Agent*), *Airlangga Journal of Pharmacy*, 5 (2).

- Fitri, R.K, dkk. 2014. Pengaruh Perawatan Luka Bakar II Menggunakan Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Pipper betle* Linn.) Terhadap Peningkatan Ketebalan Jaringan Granulasi pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar. *Majalah Kesehatan FKUB*. Vol 1(2).hal.88.
- Fuadi, A. M. dkk, 2015. Pengaruh Suhu dan pH terhadap Banyaknya Yield (Kadar Glukosa) yang Dihasilkan pada Proses Hidrolisis Enzimatis dari Limbah Kertas. *Simposium Nasional RAPI XIV*. Hal 179-185. ISSN 1412-9612. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Gibson, M. 2001. *Pharmaceutical Preformulation and Formulation*. CRC Press. United States of America.
- Gurtner, G.C. 2007. *Wound Healing: Normal and Abnormal*. Grabb dan Smith's Plastic Surgery. Sixth Edition. Philadelphia.
- Grace, P.A., dan Borley, N.R. 2007. *At a Glance Ilmu Bedah*. Edisi 3. Jakarta: Erlangga.
- Gantwerker EA, Hom DB. *Skin: Histology and Physiology of Wound Healing*. Clin Plastic Surgery 39 (2012) 85-97.
- Garg, A., D. Aggarwal, S. Garg, dan A. K. Sigla. 2002. Spreading of Semisolid Formulation. USA: *Pharmaceutical Technology*. Pp. 84-104.
- Gupta, A., Mishra, A. K., Singh, A. K., Gupta, V., & Bansal, P. 2010. Formulation and evaluation of topical gel of diclofenac sodium using different polymers. *DrugInvention Today*, 2(5), 250-253.
- Hall, L. W and K. W. Clarke. 1983. *Veterinary Anesthesia 9th*. Ed. Bailliere Tindall. London.
- Handayani, S.A., Purwanti, T., & Erawati, T. 2012. Pelepasan Na-Diklofenak Sistem Niosom Span 20- Kolesterol dalam Basis Gel HPMC. *Pharma Scientia*. I (2). 35.
- Hettiaratchy S and Dziewulski P. 2004. ABC of Burn: Pathophysiologi and Types of Burn. *British Medical Journal*. 328: 1429-1429.
- Herdiana, Y. 2007. Formulasi Gel Undesilenil Fenilalanin Dalam Aktivitas Sebagai Pencerah Kulit. *Karya Ilmiah*. Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran. Bandung. Hal. 4.

- ICH. 2003. Stability Testing of New Drug Substance and product QIA (R2), Internal Conference of Harmonisation of Technical Requirement for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. United States.
- Imansyah B.A. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Melati (*Piper betle* L) terhadap Peningkatan Kontraksi Luka Fase Proliferasi pada Perawatan Luka Bakar Derajat IIA pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. *Tugas Akhir*. Tidak Diterbitkan. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Horne M.M., Swearingen P.L., 2000. *Pocket Guide to Fluid and Electrolyte*. Elsevier
- Jacqueline, R.D., Diane, E.B., Lucia, A.L., Wilson, H., Brandon, M., Zachary, A., Hsinlin, T. 2013. *Neurogenic Factor-Induced Langerhans Cell Activation in Diabetic Mice With Mechanical Allodynia*. *J Neuroinflammation*. 10:64.
- Jinab, Y., Lingab, P.X., Heb, Y.L. and Zhangab, T.M. 2006. Effects of Chitosan and Heparin on Early Extension of Burns. *Burns*. Vol 33 (8): 1027-1031.
- Jones, L. M., N. H, Booth, and L. E. McDonald. 1977. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Oxford and IBH Pub. Co. New Delhi. Pp292-365.
- Jones, D. 2008. *Fastrack: Pharmaceuitics – Dossage Form and Design*. London and Chicago: Pharmaceutical Press.
- Kartoatmojo S. 2010. *Luka Bakar (Combustio)*. Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. [www.lukabakar.net](http://www.lukabakar.net). Diakses 10 November 2016.
- Katsir, Ibnu. 2009. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 5* (diterjemahkan oleh Ghoffar, Abdul M dan Al-Atsari, Abu Ihsan). Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Kaur, Surinder & Dhillon, Gupreet Singh. The Versatile Biopolymer Chitosan: Potential Sources, Evaluation of Extraction Methods and Application. *Critical Review in Microbiology*, 2014; 40(2): 155-175.
- Kojima, K., Okamoto, Y., Kojima, K., Miyatake, K., Fujise, H., Shigemasa, Y., dkk. Effects of Chitin and Chitosan on Collagen Synthesis in Wound Healing. *J Vet Med Sci*, 2004; 66 (12): 1595-1598.
- Kumar, V., Abul, K., Nelson, F. 2005. Robbins and Cotran Pathologic Basic Of Disease. 7ed. Philadelphia: Elsevier Saunders. P. 110-116
- Lachman, L.,H, Lieberman, & J.L, Kanig. 2007. *Teori dan Praktek Industri Farmasi*. Edisi III. UI Press. Jakarta. Hal. 210-212

- Li, J., Chen, J., Kirsner, R. 2007. *Pathophysiology Of Acute Wound Healing*. Departemen of Dermatology and Cutaneous Surgery, University of Miami Miller School of Medicine, Miami, FL 33136, USA Volume 25, Number 9-18.
- Lieberman. 2005. Handbook of Sol-Gel Science and Technology 3 Applications of Sol Gel Technology. *Springer Science & Business Media*. Netherlands. Hal 271-273.
- Luo, M., Shen, Q., Chen, J. Transdermal Delivery of Paeonol Using Cubic Geland Microemulsion Gel. *International Journal of Nanomedicine*, 2011, 6 1603-1610.
- Lu, G., and Jun, H.W. 1998. Diffusion of Methotrexate in Carbopol and Poloxamer Gela, *International Journal of Pharmaceutic*.
- Mansjoer. A. 2001. *Kapita Selekt Kedokteran*. Edisi III. Jakarta: Media Aesculapius FKUI.
- Martin, A., Swarbrick, J. & Cammarata, A. 2008. *Farmasi Fisik* Edisi Ketiga. Penerbit UI Press. Jakarta.
- Masuoka K, Ishihara M, Asazuma T, Hattori H, Matsui T, *et al*. 2005. The Interaction of Chitosan With Fibroblast Growth Factor-2 And Its Protection From Inactivation. *Biomaterials*. Vol 26: 3277-3284.
- Mekala, Sivanageswararao., Nares Kumar., Amuthan, Arul. 2013. *Evaluating Of Wound healing Activity Of Ethanolic Extract of Lantana Camara In Streptozotocin Induced Diabetic Rats*. Departemen of Clinical Pharmacology, Departemen of Biochemistry, Faculty of Medicine, International Medical and Technology University, Dar-Es-Salaam. Tanzania
- Minami, S. 1997. Mechanisms of Wound Healing Acceleration by Chitin and Chitosan. *Japanese Journal of Veterinary Research*. Vol. 44 (4) 218-219.
- Moenadjat Y. 2003. *Luka Bakar Pengetahuan Klinik Praktis*. Edisi ke-2 FK UI. Jakarta
- Moenadjat, Yefta. 2009. *Luka Bakar Masalah dan Tatalaksana*. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran UI. Jakarta
- Moore KL. 2013. *Anatomi Berorientasi Klinis*. Edisi ke-5. Jakarta: Erlangga
- Murdiyani, Annisa. 2013. Optimasi Kombinasi Karbopol dan HPMC (*Hidroksipropil Metilselulosa*) terhadap Efektivitas Gel Antiseptik Ekstrak

- Metanol Daun Kesum (*Polygonum minus Huds*) dengan Metode Simplex Lattice Desig. *Naskah Publikasi*. Universitas Tanjungpura, Jurusan Farmasi.
- Muscari, M.E. 2005. *Panduan Belajar: Keperawatan Pediatrik*. Edisi 3. Jakarta: EGC
- Muzzarelli RAA, Peter MG. 1983. *Chitosan Handbook*. European Chitin Society.
- Mori, T. Study on The Mechanisms of Wound Healing Acceleration by Chitin and Chitosan. *Jpn J Vet Res*, 1998; 46 (2-3): 113-114.
- Nayak, B.S., Sandiford, S., Maxwell, A. 2007. *Evaluation of the Wound Healing Activity of Ethanolic Extract of Morinda citrifolia L. Leaf*. Evid Based Complement Alternative Medicine.
- Nurdiana, Hariyanto, Musrifah. 2008. Perbedaan Kecepatan Penyembuhan Luka Bakar Derajat II Antara Perawatan Luka Menggunakan Virgin Coconut Oil (*Cocos nucifera*) dan Normal salin pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar. [skripsi]. Malang: FK UB.
- Okamoto, Y., Shibazaki, K., Minami, S., Matsushashi, A., Tanioka, S. and Shigemasa, Y. Evaluation of Chitin and Chitosan on Open Wound Healing in Dogs. *J Vet Med Sci*. 2003;57 (5): 851-4.
- Panjaitan, E.N., Saragih, A., dan Purba, D. 2012. Formulasi Gel Ekstrak Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe) Extract. *Journal of Pharmaceutics and Pharmacology*, Vol 1 (1), pp: 9-20.
- Perdanakusuma, David S. 2007. *Anatomi Fisiologi Kulit dan Penyembuhan Luka*. Plastic Surgery Departement, Airlangga University School Of Medicine Dr. Soetomo General Hospital . Surabaya
- Prabakti, Yudhi. 2005. Perbrdaan Jumlah Fibroblas Disekitar Luka Insisi pada Tikus yang diberi Infiltrasi Penghilang Nyeri Levobupivakain yang Tidak Diberi levopivakain. [tesis]. Tidak diterbitkan. Program Pasca Sarjana Program Pendidikan Dokter Spesialis I Anestesiologi Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro. Semarang
- Pramitasari, Y. R., 2011, Efek Penyembuhan Luka Bakar Oleh Lendir Bekicot (*Achatina fulica*) Pada Kulit Punggung Kelinci Jantan.[tesis]. Yogyakarta. Universitas Muhamadiyah Surakarta.
- Potter and Perry. 2005. *Buku Ajar Fundamental Keperawatan : Konsep, Proses & Praktek*. Edisi 4. Vol 1. Jakarta: EGC

- Putu, Agung Wijaya. 2007. *Pembuatan Kitosan dari Kulit Udang Windu*. Lampung: Universitas Lampung.
- Purnomo, Hari., 2012. Formulasi Obat Jerawat Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C*) dan Uji Aktivitas Terhadap *Propionibacterium* Secara In Vitro. [skripsi].Universitas Andalas.
- Purwatiningsih. 2009. *Isolasi Kitin dan Karakterisasi Komposisi Senyawa Kimia dari Limbah Kulit Udang Windu (Panaeus Monodon)*. Bandung: Jurusan Kimia Program Pasca Sarjana ITB.
- Reddy, G.A.K., Priyanka, B., Saranya, Ch.S., Kumar, C.K.A. 2012. Wound Healing potential of Indian Medicinal Plants. *International Journal of Pharmacy Review & Research*. Vol:2.
- Rahman, M. Andi. 2012. Kitosan Sebagai Bahan Antibakteri Alternatif dalam Formulasi Gel Pembersih Tangan (*Hand Sanitizer*). *Skripsi*.
- Rinaudo M. Chitin and Chitosan: Properties and Applications. 2006. *Prog Polym Sci*. Vol 31: 603-32
- Rismana. 2001. Kitin dan Kitosan. <http://www.ebookpangan.com> . (10 November 2016).
- Rismana, E., Kusumaningrum, S., Rosidah, I., Nizar, Yulianti, E., 2013, Pengujian Stabilitas Sediaan Antiacne Berbahan Baku Aktif Nanopartikel Kitosan/Ekstrak Manggis Pegagan. *Buletin Penelitian Kesehatan*, 41(4), 207-16.
- Rogers, T.L ., 2009, HPMC, In: Rowe, R.C., Sheskey, P.J. & Quinn, M.E. (Eds.) *Handbook of Pharmaceutical Excipient* , Sixth edition, 326-329, Pharmaceutical Press and American Pharmasist Association, London.
- Rowe, Raymond C., sheskey, Paul J., dan Quinn, Marian E., 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6<sup>th</sup> ed.*, American Pharmacist Assiciation and Pharmaceutical Press, Washington DC and London.
- Sabiston. 1995. *Buku Ajar Bedah*. Bagian 1. Alih Bahasa: Petrus Andiarto dan Timal I.S. Jakarta: EGC
- Sardjana, I. K. W dan D. Kusumawati. 2004. *Anestesi Veteriner Jilid I*. Gadjah Mada University Press. Bulaksumur, Yogyakarta 1-49.
- Sahidi F, Arachi JKV, Yon JJ. 1999. Food Aplication of Chitin and Chitosan. *in Food Science and Technlogy*. 10.,37-5

- Santoso, Singgih. 2002. *SPSS Versi 11.5 Cetakan Kedua*. Jakarta: Gramedia
- Schwartz SI. 2000. *Intisari Prinsip-Prinsip Ilmu Bedah Edisi 6*. Jakarta: EGC
- Sektiari, B dan M. Y. Wiwik. 2001. Pengaruh Premedikasi Acepromazine Terhadap Tekanan Intraokuler pada Anjing yang di Anestesi Ketamin HCL. *Media Kedokteran Hewan*. 17 (3) : 120-122.
- Septiani, S., N. Wathoni, dan S. R. Mita. 2011. Formulasi Sediaan Masker Gel Antioksidan dari Ekstrak Etanol Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* Linn.). *Jurnal Unpad*. 1(1): 4-24.
- Sezer AD, Hatipoglu F, cevher E, Ogurtan Z, Bas AL, Akbuga J. Chitosan Film Containing Fucoidan as a Wound Dressing for Dermal Burn Healing; Preparation and In Vitro/In Vivo Evaluation. *American Association of Pharmaceutical Scientists*; 2007.39:8 (2).
- Shihab, M. Quraish. 2001. *Tafsir Al-Misbah*. Ciputat: Lentera Hati.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah*, jilid . Jakarta: Lentera Hati, cet IX
- Shelma R., Paul, W. and Sharma C.P. Chitin Nanofibre Reinforced Thin Chitosan Films for Wound Healing Application. *Trends Biomaterialsand Artificial Organs*, 2008; 22 (2): 111-115.
- Shier D, Butler, J., & Lewis, R, 2004. *Somatic and Special Sense Hole's Human Anatomy And Physiology*. 10th ed. New York: The McGraw-Hill Companies Inc.
- Sihombing, C.N., Nasrul, W dan Taofik, R. 2009. Formulasi Gel Antioksidan Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) dengan Menggunakan Basis Aquapec 505 HV. [skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran. Bandung: 25-26.
- Simbun A. *Fabrication of Bacterial Cellulose, Chitosan and essential Oil Biocomposite for Antimicrobial Effect*.2010. Faculty of Chemical and Natural Resources engineering University Malaysia, Pahang.
- Singer, A.J. and Clark, R.A.F. 1999. *Cutaneous Wound Healing*. N England Medicine.
- Smeltzer, S.C., & Bare, B.G. 2001. *Buku Ajar Keperawatan Medical-Bedah Brunner & Suddarth*. Jakarta: EGC.
- Smeltzer, S., and Bare, B. 2010. *Brunner & Suddarth's Handbook of Medical Surgical Nursing*. 10<sup>th</sup> Edition. Philadelphia: Davis Company.

- Sloane, Ethel. 2003. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Pemula*. Jakarta: EGC.
- Suardi, M., Armenia, & Maryawati, A., 2008, Formulasi dan Uji Klinik Gel Anti Jerawat Benzoil Peroksida-HPMC, *Karya Ilmiah*, Fakultas Farmasi FMIPA Universitas Andalas, Padang, 1-3.
- Sudjono, T.A., Mimin Honniasih, Yunita Ratna Pratimasari, 2012. Pengaruh Konsentrasi *Gelling Agent* Carbomer 934 dan HPMC Pada Formulasi Gel Lendir Bekicot (*Achatina Fulica*) Terhadap Kecepatan Penyembuhan Luka Bakar pada Punggung Kelinci. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, Vol 13(1).
- Sugita, P. 2007. *Sintesis dan Optimalisasi Gel Kitosan-Alginat*. Bogor. FMIPA IPB
- Sugita, P. 2009. *Kitosan: Sumber Biomaterial Masa Depan*. Bogor: IPB Press
- Sugiyono. 2011. *Statistika Untuk Penelitian*. Bandung. Alfabeta. hal. 164-183.
- Sumardjo, D. 2009. *Pengantar Kimia Buku panduan Mahasiswa Kuliah Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran. EGC. Jakarta. Hal. 35-36.
- Suryadi, Iwan Antara. 2008. Proses Penyembuhan dan Penanganan Luka. *Artikel. Ilmu Penyakit Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Udayana*.
- Swastika NSP, Alissya, Mufrod, Purwanto. 2013. Aktivitas Antioksidan Krim Ekstrak Sari Tomat (*Solanum lycopersium L.*). Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM Trad. Med. J., September 2013. Vol. 18 (3), p 132-140 ISSN: 1410-5918.
- Syamsuhidayat. R. Dan Jong, W.D. 1997. *Buku Ajar Ilmu Bedah Edisi Revisi*. Jakarta: EGC.
- Syamsuhidajat R dan Wim D J. 2005. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Jakarta: EGC.
- Syamsuni. 2006. *Farmasetika Dasar dan Hitungan Farmasi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 29-31.
- Tang ZX, Shi L, Qian J. 2007. Neutral Lipase from Aqueous Solutions on Chitosan Nano Particles. *Journal Biochemical Engineering*. 34: 217-223.
- Teti & Fina. 2011. Formulasi Gel Pengupas Kulit Mati yang Mengandung Sari Buah Nanas (*Ananas comosus L*) antara 17 sampai 78%. *Jurnal IlmuKefarmasian Indonesia*. 104-109.

- Thanasukarn, P., Pongaswatmit, R., dan D.J., McClement, 2004, Influence of Emulsifier Type in Freeze Thaw Stability of Hydrogenated Palm Oil-in Water Emulsions. Foodhyd.
- Tranggono IR , Latifah. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetika*. Jakarta: PT.Gramedia Pustaka Utama.
- Ueno, C., Hunt, T.K., Hopf, H.W. 2006. *Using Physiology to Improve Surgical Wound Outcomes*. Plastic Reconstruction Surgery, 117 (supplement).
- Wardono, A. *Pengaruh Kitosan Secara Topikal Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Kimiawi pada Kulit Tikus Putih (Rattus Novergicus) Terinduksi Asam Sulfat*. KTI. Program Sarjana Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah. Yogyakarta. 2009.
- Wathoni N, Soebagio B, Rachim AM. 2009. Formulasi Gel Antioksidan Kitosan dengan Menggunakan Basis Aqupec 505 HV. *Farmaka*, Vol:7, No:3.
- Walter H. Hsu. 1985. Effect of Yohimbine and Xylazine-Induced Central Nervous System Depression in Dogs. *JAVMA*. 182 (7) : 698-699.
- Wijayanti, Devi LC. 2009. *Sintesis dan Kajian Sifat Listrik Membran Kitosan dengan Variasi Konsentrasi Kitosan*. Jurnal
- Xu, R.X. 2004. *Burn Regenerative Medicine and Therapy*. Reinhardt Druck, Basel. Switzerland.
- Zats JL, Berry JJ, Alderman DA. 1996. *Viscosity-Imparting Agents in Disperse Systems*. Pharmaceutical Dosage Forms: *Disperse System Vol.II* Edition: 287-309, Marcell Dekker Inc. New York.



# LAMPIRAN

**Lampiran 1**

Perhitungan :

1. Pembuatan asam asetat 2%

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$98,9\% \times V1 = 2\% \times 100 \text{ ml}$$

$$V1 = 2,02 \text{ ml}$$

2. Pembuatan buffer asetat pH 5

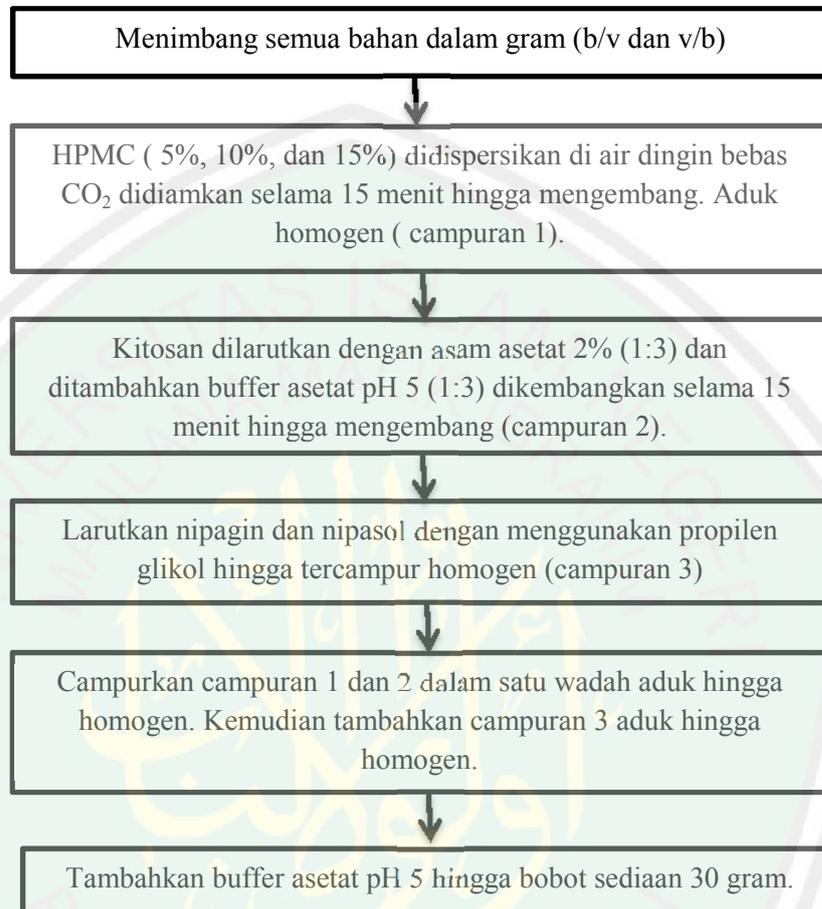
Larutan A

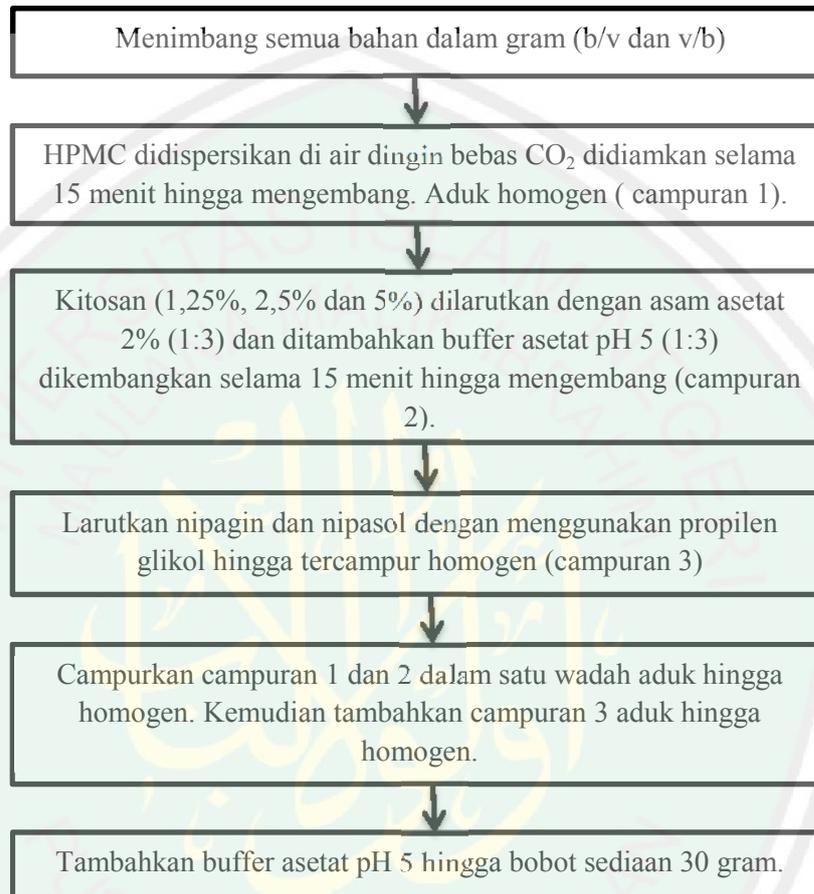
1,25 ml asam asetat dalam 100 ml aquades

Larutan B

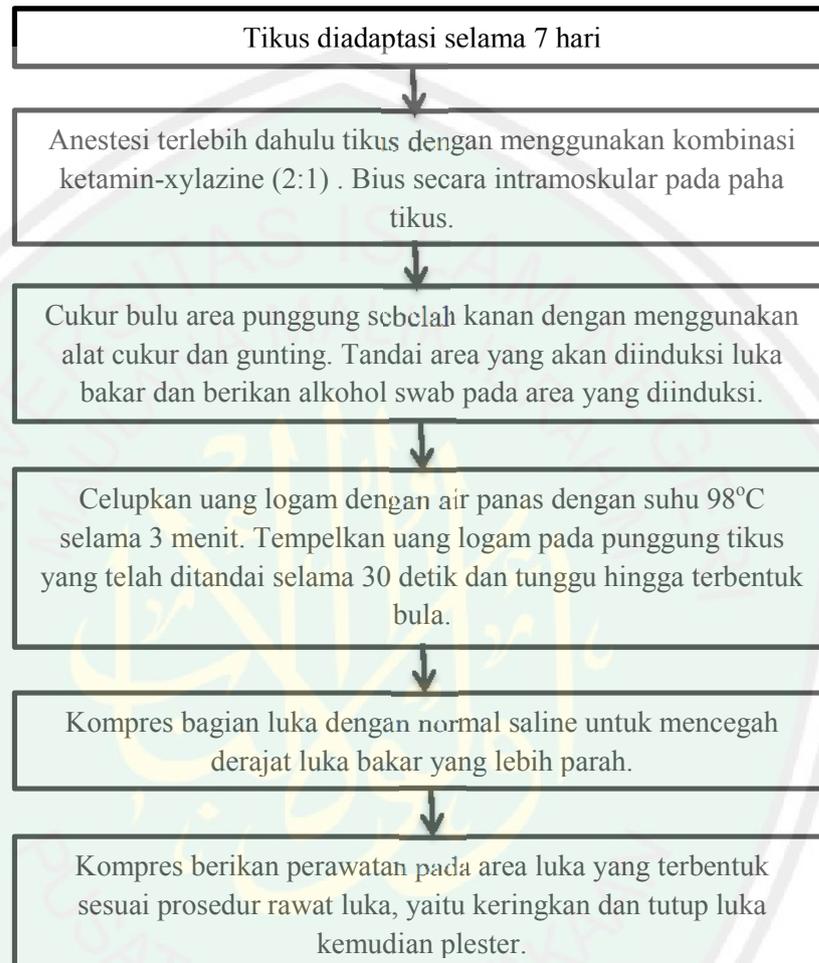
2,7 g  $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  dalam 100 ml aquades

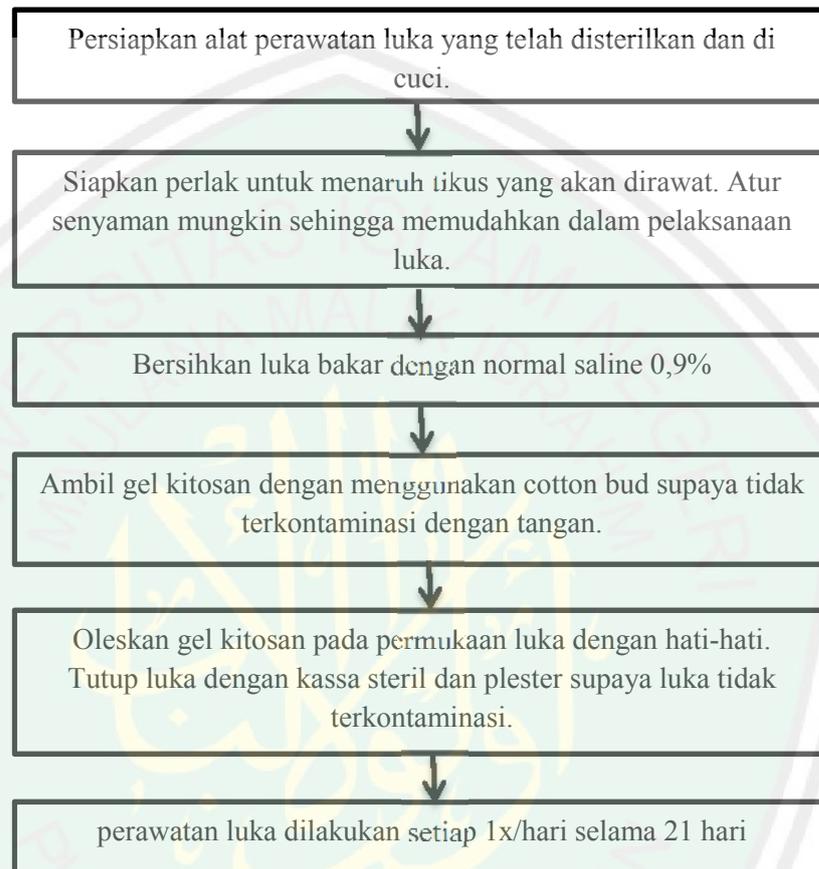
Diambil 30 ml larutan A dan 70 ml Larutan B dimasukkan dalam labu ukur 100 ml, kocok hingga homogen

**Lampiran 2****Pembuatan Optimasi Basis HPMC pada Gel Kitosan**

**Lampiran 3****Pembuatan Sediaan Gel dengan Variasi Konsentrasi Kitosan**

## Lampiran 4

**Pembuatan Luka Bakar Derajat IIA**

**Lampiran 5****Perawatan Luka Bakar Derajat IIA**

## Lampiran 6

## Hasil Luas Luka Bakar Derajat IIA

Pelakuan	Pengukuran Luas Luka (cm <sup>2</sup> ) Bakar Derajat IIA			
	Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
Positif 1	8,585	4,767	3,321	1,760
Positif 1	8,345	4,321	2,941	1,649
Positif 1	8,245	5,242	3,660	1,573
Positif 1	8,120	5,420	3,252	2,257
Positif 1	8,440	5,230	2,767	2,292
<b>Rata-Rata</b>	<b>8,347</b>	<b>4,996</b>	<b>3,188</b>	<b>1,906</b>
Negatif 1	8,795	8,700	8,650	8,550
Negatif 1	9,339	9,000	8,965	8,357
Negatif 1	10,314	9,550	8,820	8,450
Negatif 1	10,702	9,680	8,878	8,590
Negatif 1	10,670	10,560	9,520	9,050
<b>Rata-rata</b>	<b>9,964</b>	<b>9,498</b>	<b>8,967</b>	<b>8,599</b>
Gel Kitosan 0%	8,568	8,342	5,254	3,489
Gel Kitosan 0%	8,340	8,181	5,404	3,252
Gel Kitosan 0%	8,680	8,585	6,235	3,248
Gel Kitosan 0%	8,456	7,662	5,420	3,147
Gel Kitosan 0%	8,568	7,867	5,037	2,826
<b>Rata-Rata</b>	<b>8,522</b>	<b>8,127</b>	<b>5,470</b>	<b>3,192</b>
Gel Kitosan 1,25%	8,230	5,254	2,319	1,235
Gel Kitosan 1,25%	8,678	5,404	2,527	1,572
Gel Kitosan 1,25%	8,530	5,037	2,115	1,132
Gel Kitosan 1,25%	8,350	5,623	2,784	1,855
Gel Kitosan 1,25%	8,600	6,235	2,743	1,981
<b>Rata-Rata</b>	<b>8,478</b>	<b>5,511</b>	<b>2,498</b>	<b>1,555</b>
Gel Kitosan 2,5%	8,570	4,342	1,981	0,510
Gel Kitosan 2,5%	8,340	4,441	2,032	1,047
Gel Kitosan 2,5%	8,470	5,037	2,338	1,573
Gel Kitosan 2,5%	8,550	4,986	2,225	1,356
Gel Kitosan 2,5%	8,580	4,567	2,116	1,308
<b>Rata-Rata</b>	<b>8,502</b>	<b>4,675</b>	<b>2,138</b>	<b>1,159</b>
Gel Kitosan 3,75%	8,685	7,662	6,623	4,986
Gel Kitosan 3,75%	8,670	6,623	5,037	4,321
Gel Kitosan 3,75%	8,650	6,766	5,404	4,061
Gel Kitosan 3,75%	8,760	5,776	5,242	3,941
Gel Kitosan 3,75%	8,540	5,989	4,321	3,660
<b>Rata-Rata</b>	<b>8,661</b>	<b>6,563</b>	<b>5,325</b>	<b>4,194</b>

## Lampiran 7

## Hasil Prosentase Kontraksi Luka Bakar Derajat IIA

Perlakuan	% of Wound Contraction = $\{(A \text{ day } 0 - A \text{ day } x) / A \text{ day } 0\} \times 100$		
	Hari ke- 7	Hari ke- 14	Hari ke- 21
Kelompok 1			
Bioplasenton 1	44,47	61,32	79,50
Bioplasenton 2	48,22	64,76	80,24
Bioplasenton 3	36,42	55,61	80,92
Bioplasenton 4	33,25	59,95	72,20
Bioplasenton 5	38,03	67,22	72,84
<b>Rata-Rata</b>	<b>40,08</b>	<b>61,77</b>	<b>77,14</b>
Kelompok 2			
Normal saline 0,9% 1	1,08	1,65	2,79
Normal saline 0,9% 2	3,63	4,00	10,52
Normal saline 0,9 % 3	7,41	14,49	18,07
Normal saline 0,9 % 4	9,55	17,04	19,73
Normal saline 0,9 % 5	1,03	10,78	15,18
<b>Rata-Rata</b>	<b>4,54</b>	<b>9,59</b>	<b>13,26</b>
Kelompok 3			
Gel Tanpa Kitosan 1	2,64	38,68	59,28
Gel Tanpa Kitosan 2	1,91	35,20	61,01
Gel Tanpa Kitosan 3	1,09	28,17	62,58
Gel Tanpa Kitosan 4	9,39	35,90	62,78
Gel Tanpa Kitosan 5	8,18	41,21	67,02
<b>Rata-Rata</b>	<b>4,64</b>	<b>35,83</b>	<b>62,53</b>
Kelompok 4			
Gel Kitosan 1,25% 1	36,16	71,82	84,99
Gel Kitosan 1,25% 2	37,73	70,88	81,89
Gel Kitosan 1,25% 3	40,95	75,21	86,73
Gel Kitosan 1,25% 4	32,66	66,66	77,78
Gel Kitosan 1,25% 5	27,50	68,10	76,97
<b>Rata-Rata</b>	<b>35,00</b>	<b>70,53</b>	<b>81,67</b>
Kelompok 5			
Gel Kitosan 2,5% 1	49,33	76,88	94,05
Gel Kitosan 2,5% 2	46,75	75,64	87,45
Gel Kitosan 2,5% 3	40,53	72,40	81,43
Gel Kitosan 2,5% 4	41,68	73,98	84,14
Gel Kitosan 2,5% 5	46,77	75,34	84,76
<b>Rata-Rata</b>	<b>45,01</b>	<b>74,85</b>	<b>86,36</b>

Kelompok 6			
Gel Kitosan 3,75% 1	11,78	23,74	42,59
Gel Kitosan 3,75% 2	23,61	41,90	50,16
Gel Kitosan 3,75% 3	21,78	37,53	53,05
Gel Kitosan 3,75% 4	34,06	40,16	55,01
Gel Kitosan 3,75% 5	29,87	49,40	57,14
<b>Rata-Rata</b>	<b>24,22</b>	<b>38,55</b>	<b>51,59</b>

Keterangan:

A day 0 : Luas Area Luka hari ke-0

A day x : Luas Area Luka hari ke-x

X : 7, 14 dan 21



## Lampiran 8

### Uji Normalitas dan Homogenitas Gel Kitosan pH Sebelum *Freeze Thaw Test* Case Processing Summary

	Kelompok	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
ph_sebelum	1.25%	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%
	2.5%	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%
	3.75%	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%

### Tests of Normality

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
ph_sebelum	1.25%	.263	6	.200 <sup>*</sup>	.823	6	.093
	2.5%	.293	6	.117	.915	6	.473
	3.75%	.202	6	.200 <sup>*</sup>	.853	6	.167

a. Lilliefors Significance Correction

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

### Test of Homogeneity of Variances

ph_sebelum			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.970	2	15	.402

## Lampiran 9

### Uji One Way ANOVA Gel Kitosan pH Sebelum *Freeze Thaw Test*

ph_sebelum	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.053	2	.027	2.143	.152
Within Groups	.187	15	.012		
Total	.240	17			

### Uji Tukey HSD Gel Kitosan pH Sebelum *Freeze Thaw Test*

#### Multiple Comparisons

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.25%	2.5%	-.06667	.06441	.567	-.2340	.1006
	3.75%	-.13333	.06441	.130	-.3006	.0340
2.5%	1.25%	.06667	.06441	.567	-.1006	.2340
	3.75%	-.06667	.06441	.567	-.2340	.1006
3.75%	1.25%	.13333	.06441	.130	-.0340	.3006
	2.5%	-.06667	.06441	.567	-.1006	.2340

#### ph\_sebelum

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1.25%	6	5.5667
2.5%	6	5.6333
3.75%	6	5.7000
Sig.		.130

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

## Lampiran 10

### Uji Normalitas dan Homogenitas Gel Kitosan pH Sesudah *Freeze Thaw Test*

#### Case Processing Summary

Kelompok		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
ph_sesudah	gel 1,25%	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%
	gel 2,5%	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%
	gel 3,75%	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%

#### Tests of Normality

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
ph_sesudah	gel 1,25%	.293	6	.117	.822	6	.091
	gel 2,5%	.254	6	.200*	.866	6	.212
	gel 3,75%	.183	6	.200*	.960	6	.820

a. Lilliefors Significance Correction

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

#### Test of Homogeneity of Variances

ph\_sesudah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.590	2	15	.567

## Lampiran 11

Uji One Way ANOVA Gel Kitosan pH Sesudah *Freeze Thaw Test*

**ANOVA**

ph_sesudah	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.301	2	.151	19.357	.000
Within Groups	.117	15	.008		
Total	.418	17			

Uji Tukey HSD Gel Kitosan pH Sebelum *Freeze Thaw Test*

**Multiple Comparisons**

ph\_sesudah  
Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
gel 1,25%	gel 2,5%	-.15000*	.05092	.026	-.2823	-.0177
	gel 3,75%	-.31667*	.05092	.000	-.4489	-.1844
gel 2,5%	gel 1,25%	.15000*	.05092	.026	.0177	.2823
	gel 3,75%	-.16667*	.05092	.013	-.2989	-.0344
gel 3,75%	gel 1,25%	.31667*	.05092	.000	.1844	.4489
	gel 2,5%	.16667*	.05092	.013	.0344	.2989

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

**ph\_sesudah**

Tukey HSD

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
gel 1,25%	6	6.2333		
gel 2,5%	6		6.3833	
gel 3,75%	6			6.5500
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

## Lampiran 12

## Uji T-Test Gel Kitosan

## Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	sebelum	5.6333	18	.11882	.02801
	sesudah	6.3889	18	.15676	.03695

## Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	sebelum & sesudah	18	.463	.053

## Paired Samples Test

		Paired Differences					t	Df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	sebelum - sesudah	-.75556	.14642	.03451	-.82837	-.68274	-21.893	17	.000

## Lampiran 13

## Uji Normalitas Data Luas Area Luka Bakar Derajat IIA Hari ke-0

**Tests of Normality**

Kelompok	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Kontraksi Luka	KP	.121	5	.200*	.995	5	.994
	KN	.279	5	.200*	.925	5	.566
	KPB	.228	5	.200*	.965	5	.843
	K1	.217	5	.200*	.941	5	.670
	K2	.284	5	.200*	.837	5	.158
	K3	.250	5	.200*	.942	5	.680

a. Lilliefors Significance Correction

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

## Uji Normalitas Data Luas Area Luka Bakar Derajat IIA Hari ke-21

**Tests of Normality**

Kelompok	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
luas_luka_hari_21	KP	.241	5	.200*	.878	5	.299
	KN	.212	5	.200*	.891	5	.362
	KPB	.314	5	.119	.827	5	.132
	K1	.207	5	.200*	.922	5	.540
	K2	.233	5	.200*	.954	5	.762
	K3	.204	5	.200*	.938	5	.651

a. Lilliefors Significance Correction

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

## Lampiran 14

### Uji Homogenitas Data Luas Area Luka Bakar Derajat IIA Hari ke-0

#### Test of Homogeneity of Variances

Kontraksi Luka

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.421	5	24	.253

### Uji Homogenitas Data Luas Area Luka Bakar Derajat IIA Hari ke-21

#### Test of Homogeneity of Variances

luas\_luka\_hari\_21

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.011	5	24	.433

## Lampiran 15

### Uji One Way ANOVA Kontraksi Luka Bakar Derajat IIA Hari ke-0

**ANOVA**

Kontraksi Luka	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.112	5	.622	17.596	.000
Within Groups	.849	24	.035		
Total	3.961	29			

### Uji One Way ANOVA Kontraksi Luka Bakar Derajat IIA Hari ke-21

**ANOVA**

luas\_luka\_hari\_21

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	188.282	5	37.656	298.269	.000
Within Groups	3.030	24	.126		
Total	191.312	29			

## Lampiran 16

## Uji Tukey HSD Kontraksi Luka Bakar Derajat IIA Hari ke-0

## Multiple Comparisons

Kontraksi Luka  
Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KP	KN	-.98420*	.11895	.000	-1.3520	-.6164
	KPB	-.17400	.11895	.690	-.5418	.1938
	K1	-.13200	.11895	.873	-.4998	.2358
	K2	-.15800	.11895	.767	-.5258	.2098
	K3	-.31600	.11895	.122	-.6838	.0518
KN	KP	.98420*	.11895	.000	.6164	1.3520
	KPB	.81020*	.11895	.000	.4424	1.1780
	K1	.85220*	.11895	.000	.4844	1.2200
	K2	.82620*	.11895	.000	.4584	1.1940
	K3	.66820*	.11895	.000	.3004	1.0360
KPB	KP	.17400	.11895	.690	-.1938	.5418
	KN	-.81020*	.11895	.000	-1.1780	-.4424
	K1	.04200	.11895	.999	-.3258	.4098
	K2	.01600	.11895	1.000	-.3518	.3838
	K3	-.14200	.11895	.835	-.5098	.2258
K1	KP	.13200	.11895	.873	-.2358	.4998
	KN	-.85220*	.11895	.000	-1.2200	-.4844
	KPB	-.04200	.11895	.999	-.4098	.3258
	K2	-.02600	.11895	1.000	-.3938	.3418
	K3	-.18400	.11895	.639	-.5518	.1838
K2	KP	.15800	.11895	.767	-.2098	.5258
	KN	-.82620*	.11895	.000	-1.1940	-.4584
	KPB	-.01600	.11895	1.000	-.3838	.3518
	K1	.02600	.11895	1.000	-.3418	.3938
	K3	-.15800	.11895	.767	-.5258	.2098
K3	KP	.31600	.11895	.122	-.0518	.6838
	KN	-.66820*	.11895	.000	-1.0360	-.3004
	KPB	.14200	.11895	.835	-.2258	.5098
	K1	.18400	.11895	.639	-.1838	.5518
	K2	.15800	.11895	.767	-.2098	.5258

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

## Lampiran 17

## Uji Tukey HSD Kontraksi Luka Bakar Derajat IIA Hari ke-21

## Multiple Comparisons

luas\_luka\_hari\_21  
Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KP	KN	-6.79600 <sup>*</sup>	.22472	.000	-7.4908	-6.1012
	KPB	-1.40800 <sup>*</sup>	.22472	.000	-2.1028	-.7132
	K1	.05000	.22472	1.000	-.6448	.7448
	K2	.50400	.22472	.256	-.1908	1.1988
	K3	-2.59000 <sup>*</sup>	.22472	.000	-3.2848	-1.8952
KN	KP	6.79600 <sup>*</sup>	.22472	.000	6.1012	7.4908
	KPB	5.38800 <sup>*</sup>	.22472	.000	4.6932	6.0828
	K1	6.84600 <sup>*</sup>	.22472	.000	6.1512	7.5408
	K2	7.30000 <sup>*</sup>	.22472	.000	6.6052	7.9948
	K3	4.20600 <sup>*</sup>	.22472	.000	3.5112	4.9008
KPB	KP	1.40800 <sup>*</sup>	.22472	.000	.7132	2.1028
	KN	-5.38800 <sup>*</sup>	.22472	.000	-6.0828	-4.6932
	K1	1.45800 <sup>*</sup>	.22472	.000	.7632	2.1528
	K2	1.91200 <sup>*</sup>	.22472	.000	1.2172	2.6068
	K3	-1.18200 <sup>*</sup>	.22472	.000	-1.8768	-.4872
K1	KP	-.05000	.22472	1.000	-.7448	.6448
	KN	-6.84600 <sup>*</sup>	.22472	.000	-7.5408	-6.1512
	KPB	-1.45800 <sup>*</sup>	.22472	.000	-2.1528	-.7632
	K2	.45400	.22472	.361	-.2408	1.1488
	K3	-2.64000 <sup>*</sup>	.22472	.000	-3.3348	-1.9452
K2	KP	-.50400	.22472	.256	-1.1988	.1908
	KN	-7.30000 <sup>*</sup>	.22472	.000	-7.9948	-6.6052
	KPB	-1.91200 <sup>*</sup>	.22472	.000	-2.6068	-1.2172
	K1	-.45400	.22472	.361	-1.1488	.2408
	K3	-3.09400 <sup>*</sup>	.22472	.000	-3.7888	-2.3992
K3	KP	2.59000 <sup>*</sup>	.22472	.000	1.8952	3.2848
	KN	-4.20600 <sup>*</sup>	.22472	.000	-4.9008	-3.5112
	KPB	1.18200 <sup>*</sup>	.22472	.000	.4872	1.8768
	K1	2.64000 <sup>*</sup>	.22472	.000	1.9452	3.3348
	K2	3.09400 <sup>*</sup>	.22472	.000	2.3992	3.7888

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

## Lampiran 18

### 1. Perlakuan Formulasi Gel



Alat viskositas  
Brookfield



pH larutan Buffer  
asetat



uji daya sebar  
sediaam gel

### 2. Pembuatan Luka Bakar Derajat IIA pada Tikus (*Rattus norvegicus*)



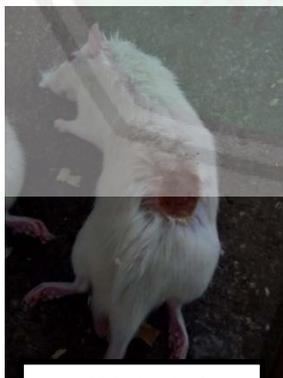
Pencukuran  
rambut



Pemanasan koin  
logam



Penempelan koin  
pada punggung



Hasil luka bakar



Perawatan luka

### Lampiran 19. Perhitungan Dosis Anestesi Tikus

$$\text{Volume Ketamin} = \frac{BB \times \text{dosis} \frac{\text{mg}}{\text{Kg BB}} (90 \text{ mg/Kg BB})}{\text{Konsentrasi (100 m/mL)}}$$

$$= \frac{200 \times 90 \frac{\text{mg}}{\text{Kg BB}}}{100 \text{ mg/mL}}$$

$$= \frac{200 \times 90 \frac{1 \text{ mg}}{1000 \text{ mg BB}}}{100 \text{ mg/mL}}$$

$$= 0,18 \text{ mL untuk 1 ekor tikus}$$

$$= 0,18 \times 30 \text{ (ekor tikus)}$$

$$= 5,4 \text{ mL}$$

$$\text{Volume Xylazine} = \frac{BB \times \text{dosis} \frac{\text{mg}}{\text{kg BB}} (10 \text{ mg/kg BB})}{\text{konsentrasi (20 mg/mL)}}$$

$$= \frac{200 \times 10 \frac{\text{mg}}{\text{Kg BB}}}{20 \text{ mg/mL}}$$

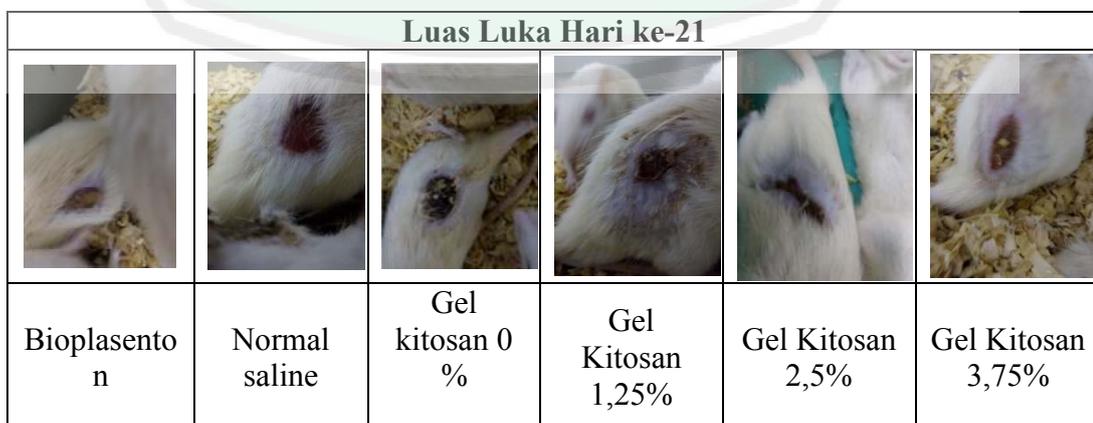
$$= \frac{200 \times 10 \frac{1 \text{ mg}}{1000 \text{ mg BB}}}{20 \text{ mg/mL}}$$

$$= 0,1 \text{ ml untuk 1 ekor tikus}$$

$$= 0,1 \times 30 \text{ (ekor tikus)}$$

$$= 3 \text{ mL}$$

### Lampiran 20. Hasil Kesembuhan Luka Bakar Derajat IIA



KARTU KONSULTASI PENELITIAN DAN PENYUSUNAN SKRIPSI



Nama : DIONI FADIA ZATALINI  
 NIM : 13670029  
 Judul Skripsi : Formulasi dan Aktifitas Gel Kitoran terhadap Penyembuhan Luka Bakar Derajat II A pada Tikur Putih (Rattur norvegicus) Salur Wistar

Pembimbing I : Waka ~~Stada~~ Sridha Bhagawan M. Farm., Apt  
 Pembimbing II : Rahmi Annisa M. Farm., Apt  
 Pembimbing Agama : Abdul Hakim

No	Hari/Tanggal	Materi Konsultasi	Catatan	Tanda Tangan
1	14 /09/2017	BAB V	Penambahan materi	
2	19 /09/2017	BAB V	Format skripsi	
	26 /09/2017	Pemsa 4apan	Ⓢ sistem dispensi RGeologi	
	27/09/2017	BAB II	tata penulisan diperhaluskan	
	27/09/2017	BAB I	Perubahan rumusan masalah	
	28/09/2017	BAB VI	Kesimpulan diperpendek	
	29/09/2017	BAB IV	Pembenahi Metode penelitian	

KARTU KONSULTASI PENELITIAN DAN PENYUSUNAN SKRIPSI



Nama : Dioni Fadia Zatalmi  
 NIM : 13670029  
 Judul Skripsi : Formulasi dan Aktivitas Gel Kitosan terhadap Penyembuhan Luka Bakar Derajat II A pada Tikus putih (Rattus norvegicus) Salur Usus

Pembimbing I : Weka Sidha Bhagawan M.Farm., Apt  
 Pembimbing II : Rahmi Annisa M.Farm., Apt  
 Pembimbing Agama : Abdul Hakim

No	Hari/Tanggal	Materi Konsultasi	Catatan	Tanda Tangan
1.	13/09/2017	BAB V	Penambahan Pembahasan	
a.	14/09/2017	BAB V	melengkapi tabel	
	15/09/2017	BAB VI	<del>Pada</del> —	
	24/09/2017	BAB V	melengkapi Abstrak	
		BAB V	melengkapi BAB I - VI	
	25/09/2017	BAB VI	Pembetulan simpulan	
	26/09/2017	BAB V	Jelaskan uji statistiknya	
	27/09/2017	BAB III	Perbaiki kerangka	
	28/09/2017	BAB II	Penulisan diperhatikan	
	29/09/2017	Lampiran	dilengkapi perhitungan	

KARTU KONSULTASI PENELITIAN DAN PENYUSUNAN SKRIPSI



Nama : ~~13670029~~ Dioni Fadia Zatulmi  
 NIM : 13670029  
 Judul Skripsi : Formulasi dan Afinitas Gel Kitosan terhadap Penyembuhan Luka Bakar Derajat II A pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Wistar

Pembimbing I : Weka Srdha Bhagawan M.Farm., Apt  
 Pembimbing II : Rahmi Annisa M.Farm., Apt  
 Pembimbing Agama : Abdul Hakim

No	Hari/Tanggal	Materi Konsultasi	Catatan	Tanda Tangan
1	24 /09 /2017	BAB ✓	Menambahkan 1 surat yg mendukung	f
2	25 /09 /2017	BAB I	Pemilihan kata-kata yg sehubungan dgn penelitian	f
	26 /09 /2017	BAB II	Font ayat di ubah	f
	27 /09 /2017	BAB ✓	Perbaiki Penulisan yg baik	f
	28 /09 /2017	BAB I, II, V	-	f



**KEMENTERIAN AGAMA**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN**  
**JURUSAN FARMASI**

Jalan Gajayana 50 Malang Telp. (0341) 551354, 558882 Fax.(0341) 572533, 5588892  
Website : www.fkik.uin-malang.ac.id Email : fkik@uin-malang.ac.id

**LEMBAR PERSETUJUAN UJIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini, dosen pembimbing dan konsultan menyetujui ujian skripsi penelitian skripsi mahasiswa :

Nama : Dioni Fadia Zatalini  
NIM : 13670029  
Jurusan : Farmasi  
Fakultas : Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan  
Judul Skripsi : Formulasi dan Aktivitas Gel HPMC-Kitosan Terhadap Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIA pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar  
Hari : Rabu, 1 November 2017  
Tanggal : 1 November 2017  
Waktu : 06.30 WIB -selesai  
Tempat : Ruang Sidang Farman UIN Malang

No	Jabatan	Nama Dosen	Tanda Tangan	Tanggal Persetujuan
1	Pembimbing Utama	Weka Sidha Bhagawan M,Farm.,Apt		26/10 17
2	Pembimbing Agama	Abdul Hakim, S.Si, M.Pi, Apt		25/10 17
3	Konsultan	Rahmi Annisa M,Farm.,Apt		26/10 17

Malang,

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Farmasi

**Dr Roihatul Mutiah, M.Kes, Apt**  
**NIP. 19800203 200912 2 001**



**KEMENTERIAN AGAMA**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN**  
**JURUSAN FARMASI**

Jl. Ir. Soekarno No.34 Dadaprejo Batu, Telepon (0341) 577033 Faksimile (0341) 577033  
Website: <http://fkik.uin-malang.ac.id>. E-mail: [fkik@uin-malang.ac.id](mailto:fkik@uin-malang.ac.id)

**LEMBAR PERSETUJUAN PERBAIKAN (REVISI) UJIAN SKRIPSI**

Naskah ujian skripsi yang disusun oleh:

Nama : Dioni Fadia Zatalini  
NIM : 13670029  
Judul : Formulasi dan Aktivitas Gel HPMC-Kitosan Terhadap Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIA pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar  
Tanggal Seminar Hasil : 1 November 2017

Telah dilakukan perbaikan sesuai dengan saran tim pembimbing dan tim penguji serta diperkenankan untuk melanjutkan ke tahap penelitian.

No	Nama Dosen	Tanggal Revisi	Tanda Tangan
1	Dewi Sinta M,Sc	9 November 2017	
2	Rahmi Annisa, M.Farm.,Apt	8 November 2017	
3	Weka Sidha B., M.Farm.,Apt	27 November 2017	
4	Abdul Hakim, S.Si, M.Pi,Apt	17 November 2017	

Catatan :

1. Batas waktu maksimum melakukan revisi 2 Minggu. Jika tidak selesai, mahasiswa TIDAK dapat mendaftarkan diri untuk mengikuti Yudisium
2. Lembar revisi dilampirkan dalam naskah skripsi yang telah dijilid, dan dikumpulkan di Bagian Administrasi Jurusan Farmasi selanjutnya mahasiswa berhak menerima Bukti Lulus Ujian Skripsi.

Malang,  
Mengetahui,  
Ketua Jurusan Farmasi

Dr. Rohatul Mutiah, M.Kes,Apt  
NIP 19800203 200912 2003



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS KEDOKTERAN  
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia  
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755  
<http://www.fk.ub.ac.id> e-mail : [kep.fk@ub.ac.id](mailto:kep.fk@ub.ac.id)

KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 160 / EC / KEPK – S1 / 04 / 2017

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA,  
SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN,  
DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

**JUDUL** : Formulasi dan Aktivitas Gel Kitosan terhadap Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIA pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar.

**PENELITI** : Dioni Fadia Zatalini

**UNIT / LEMBAGA** : S1 Farmasi - Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan – Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

**TEMPAT PENELITIAN** : Laboratorium Hewan Coba Jurusan Biologi, Laboratorium Kimia Farmasi, Laboratorium Teknologi Farmasi Jurusan Farmasi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang, 13 APR 2017



Ketua  
Komisi Etik Penelitian Kesehatan

Prof. Dr. dr Moch. Istiadjid ES, SpS, SpBS(K), M.Hum  
NIK. 160746683

**Catatan :**

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan  
Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy.  
Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).

# **NR** N&R INDUSTRIES, INC

## CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product name	Chitosan	Country of Origin	China
Batch Size	1000KG	Batch Number	20160102
Manufacture Date	Jan 02, 2016	Expiry Date	Jan 01, 2018

Items	Specification	Results
Description	Yellowish white powder	Yellowish white powder
Viscosity (1% @ 25 °C)	50-500cps	110cps
DAC Degree	≥90%	92.5%
Total Ash	≤1.0%	0.89%
Insolubles	≤1%	0.36%
Moisture	≤10.0%	8.5%
Particle Size	95% Through 80 Mesh Sieve	Conforms
Heavy Metals	≤10.0 ppm	< 10ppm
Arsenic	≤1 ppm	< 5ppm
Density	≥0.28 g/ml	0.302 g/ml
<b>Microbiological Control</b>		
Total Plate Count	≤1000 cfu/g	<1000 cfu/g
Yeast & Mold	≤100cfu/g	Conforms
Salmonella	Negative	Negative
E. Coli	Negative	Negative
Storage	Cool & dry place. Do not freeze. Keep away from strong light and heat.	
Shelf	2 years when properly stored	

Conclusion: The product Conforms with above specification.

Analyst: Zhong Miancheng



Add: Rm#2107, Block A, Epin Meidao Building, Gaoxin Rd, Hi-Tech Zone, Xi'an, China  
 Tel: +86-29-88764861 Fax: +86-29-88764861 Email: nutrail@yahoo.com  
 Web: www.nutraill.com