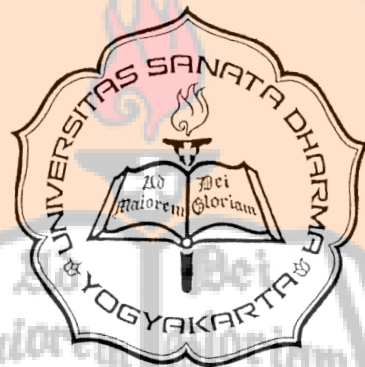


**OPTIMASI KADAR IBUPROFEN DALAM SEDIAAN HIDROGEL
SEBAGAI *DIABETIC WOUND HEALING* PADA LUKA TIKUS
DIABETES**

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)
Program Studi Farmasi



Oleh:

Ivana Tunggal

NIM: 138114039

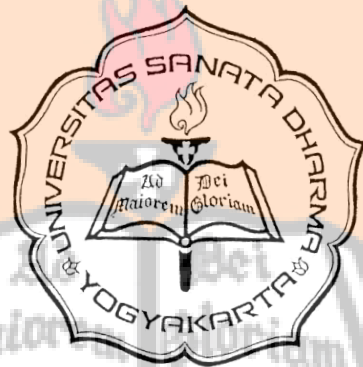
**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SANATA DHARMA
YOGYAKARTA**

2016

**OPTIMASI KADAR IBUPROFEN DALAM SEDIAAN HIDROGEL
SEBAGAI *DIABETIC WOUND HEALING* PADA LUKA TIKUS
DIABETES**

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)
Program Studi Farmasi



Oleh:

Ivana Tunggal

NIM: 138114039

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SANATA DHARMA
YOGYAKARTA**

2016

Persetujuan Pembimbing
OPTIMASI KADAR IBUPROFEN DALAM SEDIAAN HIDROGEL
SEBAGAI *DIABETIC WOUND HEALING* PADA LUKA TIKUS
DIABETES

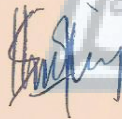
Skripsi yang diajukan oleh:

Ivana Tunggal

NIM: 138114039

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama



Dr. Sri Hartati Yuliani, Apt.

tanggal 1 November 2016

Pengesahan Skripsi Berjudul

**OPTIMASI KADAR IBUPROFEN DALAM SEDIAAN HIDROGEL
SEBAGAI *DIABETIC WOUND HEALING* PADA LUKA TIKUS
DIABETES**

Oleh:

Ivana Tunggal

NIM: 138114039

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi

Fakultas Farmasi

Universitas Sanata Dharma

pada tanggal: 30 November 2016

Mengetahui

Fakultas Farmasi

Universitas Sanata Dharma

Dekan

Aris Widayati, M.Si., Ph.D., Apt.

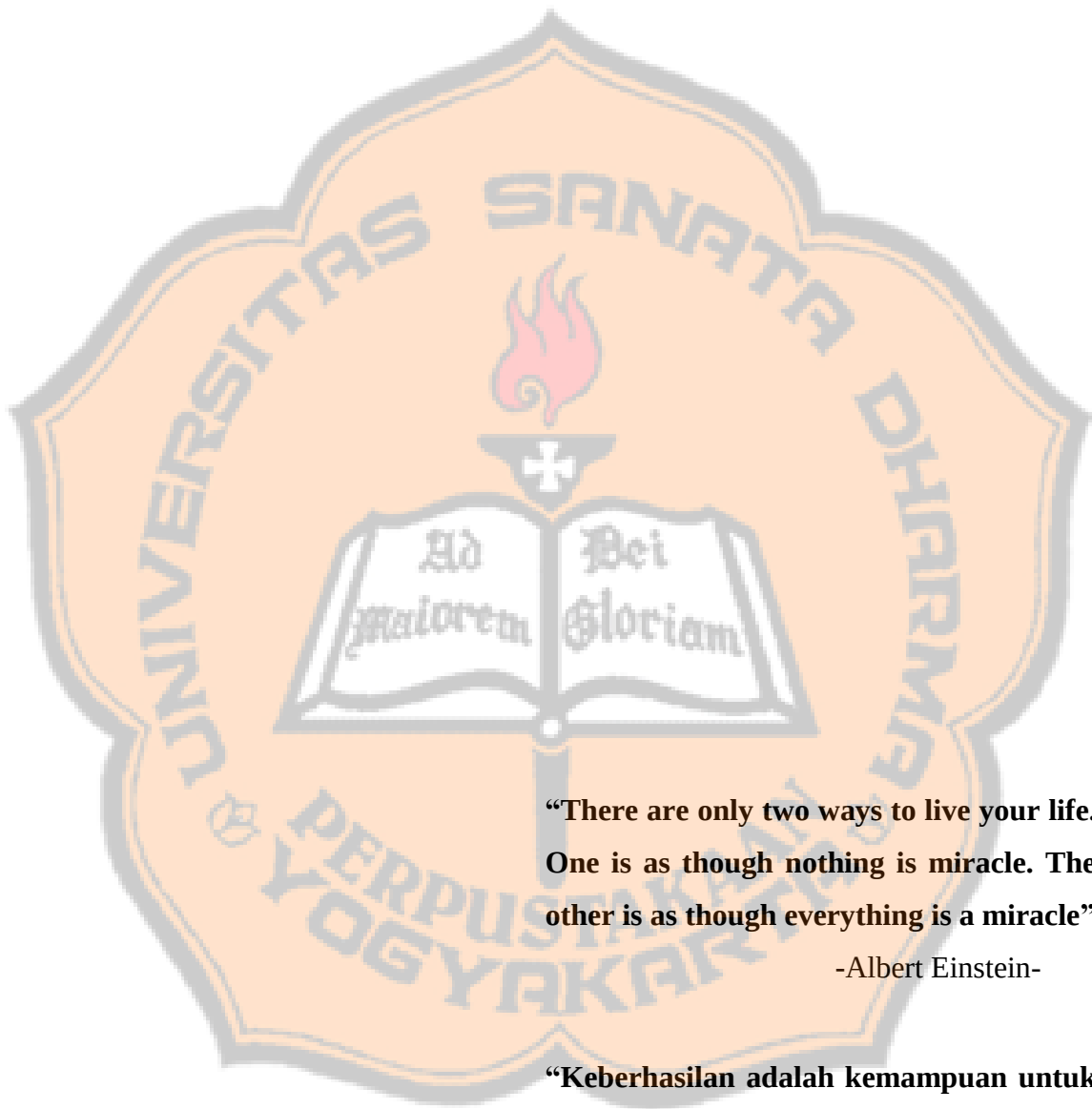
Panitia Penguji:

1. Dr. Sri Hartati Yuliani, Apt.
2. Enade Perdana Istyastono, Ph.D., Apt.
3. Nunung Yuniarti, Ph.D., Apt.

Tanda tangan

.....
.....
.....

HALAMAN PERSEMBAHAN



**“There are only two ways to live your life.
One is as though nothing is miracle. The
other is as though everything is a miracle”**

-Albert Einstein-

**“Keberhasilan adalah kemampuan untuk
melewati dan mengatasi dari satu
kegagalan ke kegagalan berikutnya tanpa
kehilangan semangat”**

-Winston Churchill-

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan rahmat yang telah diberikan sehingga skripsi yang berjudul “Optimasi Kadar Ibuprofen dalam Sediaan Hidrogel sebagai *Diabetic Wound Healing* pada Luka Tikus Diabetes” dapat dikerjakan dengan baik dan lancar.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari campur tangan berbagai pihak. Kesempatan ini penulis gunakan untuk mengungkapkan rasa terima kasih kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan anugerahnya atas penyusunan skripsi ini;
2. Ibu Aris Widayati, M.Si., Ph.D., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma;
3. Ibu Dr. Sri Hartati Yuliani, Apt., selaku Ketua Program Studi Fakultas Farmasi dan dosen pembimbing yang selalu menuntun, memberikan saran, dan memotivasi selama penelitian dan penyusunan skripsi;
4. Ibu Agustina Setiawati, M.Sc., Apt. dan Ibu Dr. Dewi Setyaningsih, M.Sc., Apt., selaku Kepala Laboratorium Fakultas Farmasi yang telah memberikan izin dalam penggunaan fasilitas laboratorium untuk kepentingan penelitian ini;
5. Bapak Enade Perdana Istyastono, Ph.D., Apt., yang telah mendukung dan memberi banyak panduan dalam penyusunan skripsi ini;
6. Ibu Nunung Yuniarti, Ph.D., Apt., yang juga telah mendukung dan memberikan banyak panduan dalam penyusunan skripsi ini;
7. Bapak Yohanes Ratijo, yang telah banyak bersabar dalam mendampingi penelitian, selalu mendukung, memotivasi, dan meluangkan waktu, tempat, dan tenaga demi kelancaran penelitian ini;
8. Pak Agung, Pak Kayat, Pak Musrifin, Pak Mukminin, dan Pak Wagiran, selaku laboran laboratorium Fakultas Farmasi yang telah mengizinkan penulis untuk melaksanakan penelitian di laboratorium;

9. Keluarga tercinta, Richie Tunggal, Tjen Fung Mie, Vania Tunggal dan keluarga besar penulis yang selalu memberikan doa, perhatian, dan motivasi demi kelancaran studi dan penyusunan naskah skripsi;
10. Bernadus Dhuta Wibowo sebagai partner skripsi sekaligus sahabat terbaik yang telah memberikan waktu, bantuan, perhatian, dan motivasi selama penelitian dan penyusunan naskah skripsi;
11. Nilla dan Hesti yang sama-sama merasakan suka duka selama penelitian hingga penulisan naskah skripsi ini;
12. Teman-teman seperjuangan: Tya, Kenny, Dipta, Ryan, Elwy, Dipta yang telah membantu dan mau bekerjasama dalam penelitian;
13. Teman-teman dekat penulis: Maribeth, Angel, Selvi, Nina, Sheren, Astrid, Maria, Aven, Eko, Ida, Putri, Indri, Cindy, Ririn, Monita, Ike, Mas Bram, Chindy, Yosia, Dian, Vita, Vinsen yang memberikan keceriaan dan motivasi selama penulisan skripsi ini;
14. Teman-teman FST 2013, FSM A 2013, dan seluruh angkatan 2013;
15. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan sehingga penulis berharap kritik dan saran dari semua pihak. Akhir kata, penulis berharap semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi semua pihak terutama di bidang ilmu farmasi.

Yogyakarta, 1 November 2016

Penulis

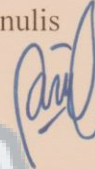
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini tidak memuat karya atau bagian karya orang lain, kecuali yang telah disebutkan dalam kutipan dan daftar pustaka, sebagaimana layaknya karya ilmiah.

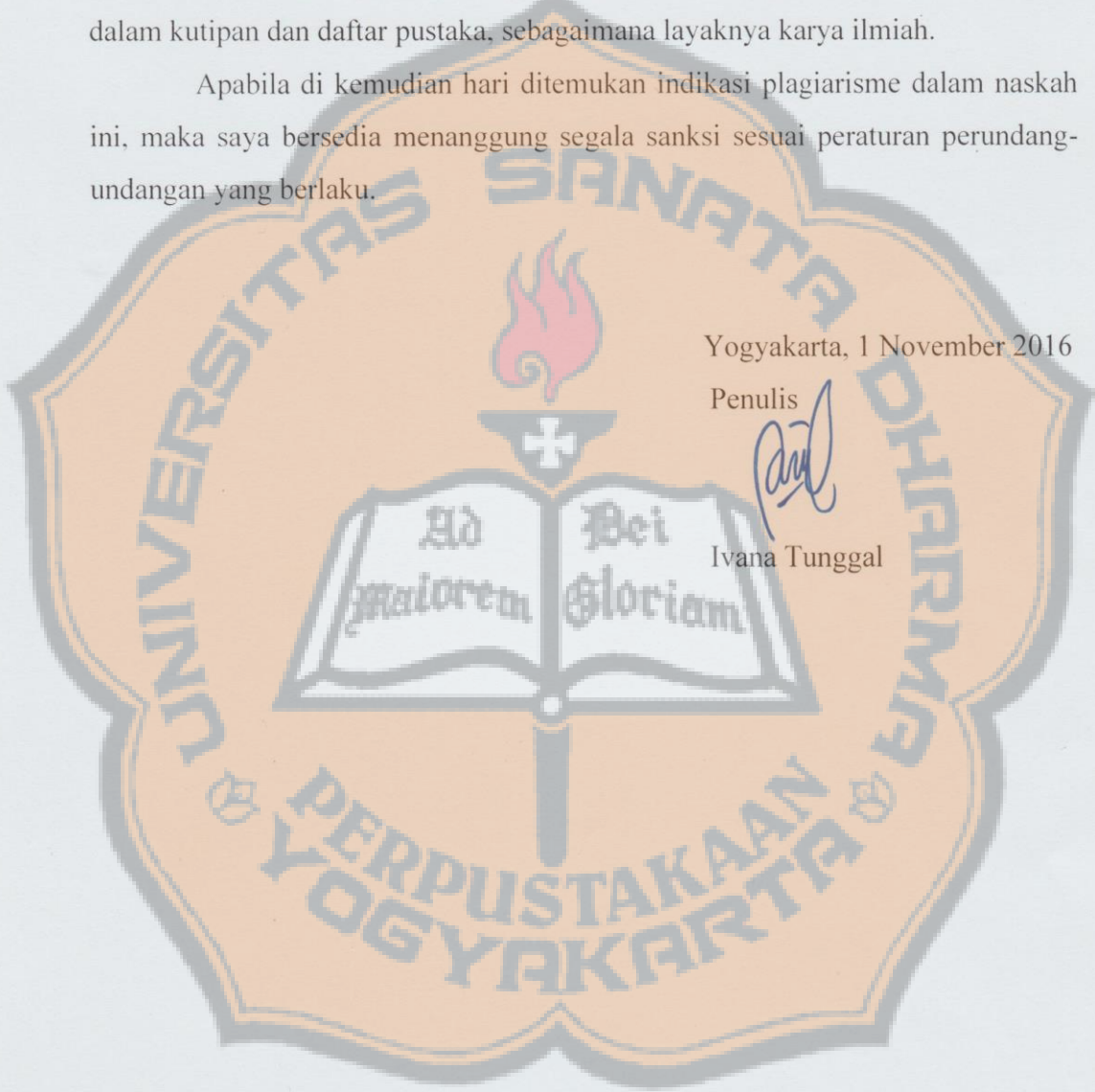
Apabila di kemudian hari ditemukan indikasi plagiarisme dalam naskah ini, maka saya bersedia menanggung segala sanksi sesuai peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Yogyakarta, 1 November 2016

Penulis



Ivana Tunggal



**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya mahasiswa Universitas Sanata Dharma :

Nama : Ivana Tunggal

Nomor Mahasiswa : 138114039

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya memberikan kepada Perpustakaan Universitas Sanata Dharma karya ilmiah saya yang berjudul :

“Optimasi Kadar Ibuprofen dalam Sediaan Hidrogel sebagai *Diabetic Wound Healing* pada Luka Tikus Diabetes”

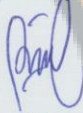
beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan demikian saya memberikan kepada Perpustakaan Universitas Sanata Dharma hak untuk menyimpan, mengalihkan dalam bentuk media lain, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data, mendistribusikan secara terbatas, dan mempublikasikannya di Internet atau media lain untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya maupun memberikan royalti kepada saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di Yogyakarta

Pada tanggal : 7 Januari 2017

Yang menyatakan,



(Ivana Tunggal)

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
PRAKATA.....	vi
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA	viii
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN KATA.....	xiv
ABSTRAK.....	xv
ABSTRACT	xvi
PENDAHULUAN	2
METODE PENELITIAN.....	2
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	5
Formulasi Sediaan Hidrogel.....	5
Uji Sterilitas.....	6
Evaluasi Sifat Fisik.....	6
Perlakuan Terhadap Hewan Uji	7
Waktu Penyembuhan Luka	9
Uji Histopatologi	10
KESIMPULAN	13
UCAPAN TERIMA KASIH.....	13
DAFTAR PUSTAKA	14
LAMPIRAN.....	16
BIOGRAFI PENULIS	45

DAFTAR TABEL

Tabel I. Hasil evaluasi sifat fisik.....	7
Tabel II. Rata-rata waktu penyembuhan luka	9
Tabel III. Intepretasi hasil histopatologi	11



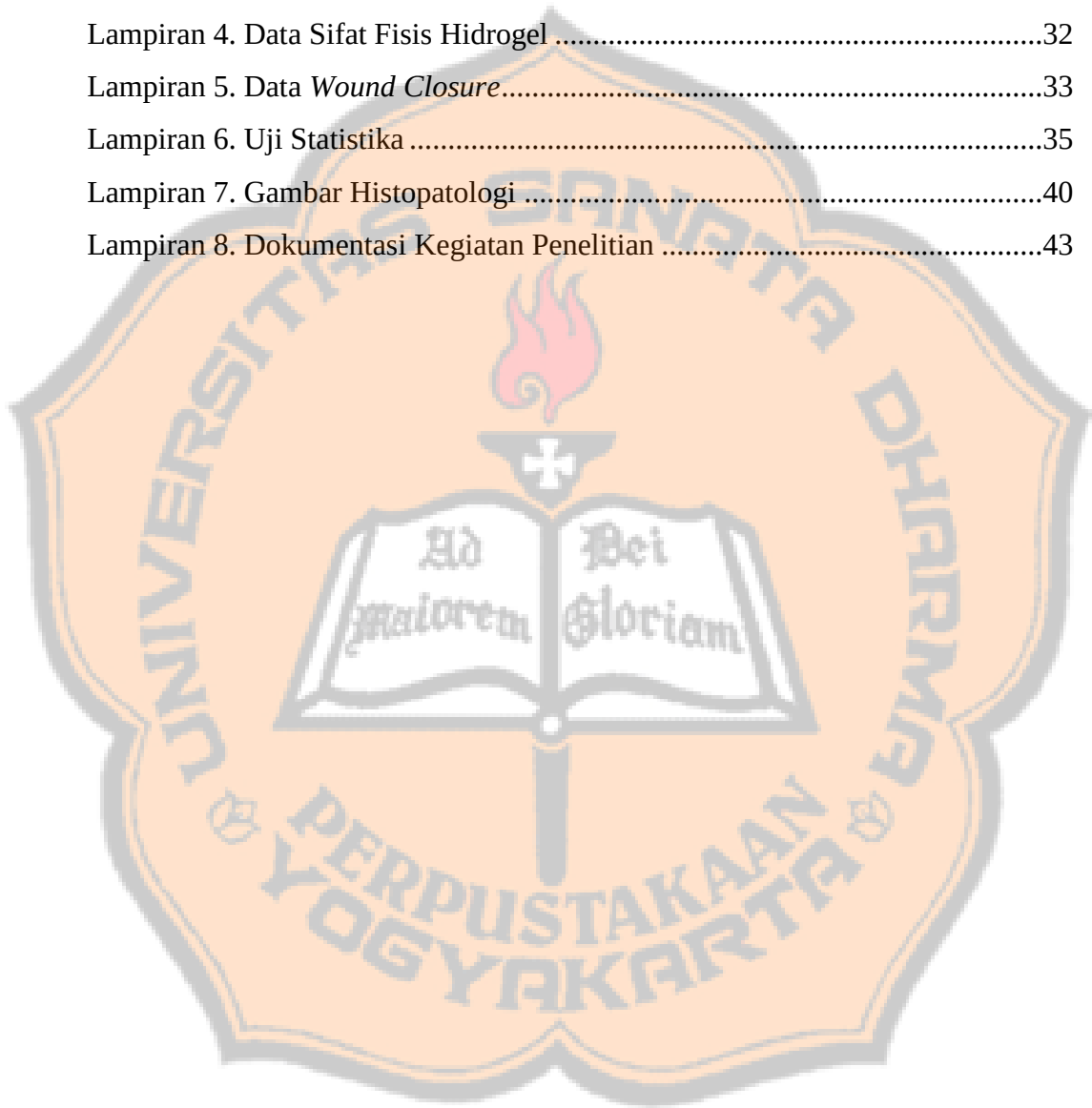
DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Hasil uji sterilitas.....	6
Gambar 2. Grafik rheologi sediaan gel	7
Gambar 3. Hasil uji histopatologi pengecatan Hematoxylin Eosin	10



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Proposal Penelitian	16
Lampiran 2. <i>Ethical Clearance</i>	28
Lampiran 3. <i>Certificate of Analysis</i>	29
Lampiran 4. Data Sifat Fisis Hidrogel	32
Lampiran 5. Data <i>Wound Closure</i>	33
Lampiran 6. Uji Statistika	35
Lampiran 7. Gambar Histopatologi	40
Lampiran 8. Dokumentasi Kegiatan Penelitian	43



DAFTAR SINGKATAN KATA

COX-1	= Cyclooxygenase-1
COX-2	= Cyclooxygenase-2
Gel	= Basis hidrogel tanpa ibuprofen
GOD-PAP	= <i>Glucose Oxidase – Phenol Aminoantipiryn Peroxidase</i>
HE	= Hematoxylin Eosin
IBU 1	= Ibuprofen 1,25%
IBU 2	= Ibuprofen 2,5%
IBU 3	= Ibuprofen 5%
LAF	= <i>Laminar Air Flow</i>
MMP-9	= Matriks Metalloproteinase 9
MMPs	= <i>Matrix Metalloproteinases</i>
NSAID	= <i>Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug</i>
PGE ₂	= Prostaglandin E2
UV	= Ultraviolet

ABSTRAK

Pada luka diabetes, terjadi peningkatan kadar MMP-9 yang dapat mendegradasi matriks ekstraseluler sehingga menghambat proses penyembuhan luka. Hal ini menyebabkan 23,5% dari penderita *diabetic foot ulcer* harus mengalami amputasi. Ibuprofen diduga dapat mempercepat penyembuhan luka pada penderita diabetes. Penelitian “Optimasi Kadar Ibuprofen dalam Sediaan Hidrogel sebagai *Diabetic Wound Healing* pada Luka Tikus Diabetes” bertujuan untuk mengetahui konsentrasi optimal ibuprofen dalam sediaan hidrogel sebagai *diabetic wound healing* yang mampu mempercepat penyembuhan luka pada tikus yang menderita diabetes. Kadar glukosa darah tikus yang telah diinduksi dengan aloksan sebagai induktor diabetes diukur dengan metode GOD-PAP (*Glucose Oxidase – Phenol Aminoantipiryn Peroxidase*). Zat aktif ibuprofen yang telah diformulasikan dalam sediaan hidrogel, diaplikasikan setiap 12 jam pada luka eksisi tikus hingga luka menutup dan didapatkan persentase penutupan luka. Tikus yang lukanya telah tertutup kemudian dieuthanasia dengan injeksi ketamin dosis 100 mg/kgBB untuk dilakukan uji histopatologi pada struktur kulit dari bekas luka. Hasil analisis statistika menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada waktu penyembuhan antarluka pada kelompok tikus kontrol maupun kelompok tikus diabetes. Hasil uji histopatologi menunjukkan konsentrasi optimal ibuprofen yang dapat mempercepat penyembuhan luka dengan kualitas terbaik adalah 1,25%. Kata kunci: *Diabetic wound healing*, hidrogel, ibuprofen, luka diabetes

ABSTRACT

Increased level of MMP-9 in the diabetic wound can degrade extracellular matrix thus inhibiting the wound healing process. This caused 23,5% of patients with diabetic foot ulcers should be amputated. Ibuprofen is thought could accelerate wound healing in diabetics. The aim of the study "Optimization of Ibuprofen's Level in Hydrogel Preparation as Diabetic Wound Healing on Diabetic Rat's Wound" is to determine the optimal concentration of ibuprofen in the preparation of hydrogel as diabetic wound healing that can accelerate wound healing in diabetic rats. Blood glucose level of rats induced with alloxan as diabetic inductor was measured by GOD-PAP (Glucose Oxidase – Phenol Aminoantipiryn Peroxidase) method. The active substance ibuprofen which has been formulated in a hydrogel, applied every 12 hours in rats' excision wounds until the wounds are closed and wound closure percentages of rats are obtained. After wound had closed, rats will be euthanized by injection of 100 mg/kg ketamine to refer histopathological test on the skin structure of the scars. Statistical analysis has shown there is no significant difference in wound healing time inter-wounds of control group as well as diabetic group. Histology assay has shown that the optimal concentration of ibuprofen which can accelerate wound healing with the best quality is 1,25%.

Keywords: Diabetic ulcer, diabetic wound healing, hydrogel, ibuprofen

**OPTIMASI KADAR IBUPROFEN DALAM SEDIAAN HIDROGEL SEBAGAI
DIABETIC WOUND HEALING PADA LUKA TIKUS DIABETES**
**OPTIMIZATION OF IBUPROFEN'S LEVEL IN HYDROGEL PREPARATION AS
DIABETIC WOUND HEALING ON DIABETIC RAT'S WOUND**

Ivana Tunggal

Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Kampus III Paingan, Maguwoharjo, Depok,
Sleman, Yogyakarta, 55282, Indonesia
Telp. (0274) 883037, Fax. (0274) 886529
ciciliaivana30@gmail.com

ABSTRACT

Increased level of MMP-9 in the diabetic wound can degrade extracellular matrix thus inhibiting the wound healing process. This caused 23,5% of patients with diabetic foot ulcers should be amputated. Ibuprofen is thought could accelerate wound healing in diabetics. The aim of the study "Optimization of Ibuprofen's Level in Hydrogel Preparation as Diabetic Wound Healing on Diabetic Rat's Wound" is to determine the optimal concentration of ibuprofen in the preparation of hydrogel as diabetic wound healing that can accelerate wound healing in diabetic rats. Blood glucose level of rats induced with alloxan as diabetic inductor was measured by GOD-PAP (Glucose Oxidase – Phenol Aminoantipiryn Peroxidase) method. The active substance ibuprofen which has been formulated in a hydrogel, applied every 12 hours in rats' excision wounds until the wounds are closed and wound closure percentages of rats are obtained. After wound had closed, rats will be euthanized by injection of 100 mg/kg ketamine to refer histopathological test on the skin structure of the scars. Statistical analysis has shown there is no significant difference in wound healing time inter-wounds of control group as well as diabetic group. Histology assay has shown that the optimal concentration of ibuprofen which can accelerate wound healing with the best quality is 1,25%.

Keywords: Diabetic ulcer, diabetic wound healing, hydrogel, ibuprofen

ABSTRAK

Pada luka diabetes, terjadi peningkatan kadar MMP-9 yang dapat mendegradasi matriks ekstraseluler sehingga menghambat proses penyembuhan luka. Hal ini menyebabkan 23,5% dari penderita *diabetic foot ulcer* harus mengalami amputasi. Ibuprofen diduga dapat mempercepat penyembuhan luka pada penderita diabetes. Penelitian "Optimasi Kadar Ibuprofen dalam Sediaan Hidrogel sebagai *Diabetic Wound Healing* pada Luka Tikus Diabetes" bertujuan untuk mengetahui konsentrasi optimal ibuprofen dalam sediaan hidrogel sebagai *diabetic wound healing* yang mampu mempercepat penyembuhan luka pada tikus yang menderita diabetes. Kadar glukosa darah tikus yang telah diinduksi dengan aloksan sebagai induktor diabetes diukur dengan metode GOD-PAP (*Glucose Oxidase – Phenol Aminoantipiryn Peroxidase*). Zat aktif ibuprofen yang telah diformulasikan dalam sediaan hidrogel, diaplikasikan setiap 12 jam pada luka eksisi tikus hingga luka menutup dan didapatkan persentase penutupan luka. Tikus yang lukanya telah tertutup kemudian dieuthanasia dengan injeksi ketamin dosis 100 mg/kgBB untuk dilakukan uji histopatologi pada struktur kulit dari bekas luka. Hasil analisis statistika menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada waktu penyembuhan antarluka pada kelompok tikus kontrol maupun kelompok tikus diabetes. Hasil uji histopatologi menunjukkan konsentrasi optimal ibuprofen yang dapat mempercepat penyembuhan luka dengan kualitas terbaik adalah 1,25%.

Kata kunci: *Diabetic wound healing*, hidrogel, ibuprofen, luka diabetes

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai oleh hiperglikemia akibat kegagalan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya (Artanti *et al.*, 2015). Pada tahun 2014, prevalensi penderita diabetes melitus pada usia produktif di Indonesia mencapai 4,6% yang terdiri dari 1,1% yang telah terdiagnosis dan 3,5% yang tidak terdiagnosis (Mihardja *et al.*, 2014). Sekitar 15% dari keseluruhan jumlah penderita diabetes di Indonesia mengalami *diabetic foot ulcer* yang menyebabkan 23,5% dari seluruh penderita *diabetic foot ulcer* mengalami amputasi (Santosa & Nikmah, 2014).

Menurut Hamed *et al.* (2014), proses penyembuhan luka secara normal pada kulit terdiri atas 4 fase : fase koagulasi atau fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi yang ditandai dengan terbentuknya jaringan granulasi, dan yang terakhir fase *remodelling*. Pada luka yang dialami oleh penderita diabetes, beberapa aspek dari proses penyembuhan luka dapat mengalami gangguan yakni terjadi disfungsi dari respon inflamasi, berkurangnya formasi jaringan granulasi dan terganggunya angiogenesis (Cianfarani *et al.*, 2006). Cairan luka pada penderita diabetes mengandung sejumlah besar matriks metalloproteinase (MMP) termasuk MMP-9 yang dapat merusak protein matriks ekstraseluler sehingga menghambat penyembuhan luka (Falanga, 2004).

Ibuprofen yang digunakan sebagai zat aktif pada sediaan hidrogel *diabetic wound healing* memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antipiretik, dan analgesik (Bushra & Aslam, 2010). Ibuprofen merupakan derivat asam propionat golongan NSAID yang bekerja sebagai inhibitor non-selektif terhadap siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX-2) (Swami & Swami, 2015). Pelepasan PGE₂ yang dihambat oleh ibuprofen sebagai inhibitor COX-1 dan COX-2 dapat mengurangi level MMP-9 (Yen *et al.*, 2008).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi optimal ibuprofen dalam sediaan hidrogel *diabetic wound healing* yang mampu mempercepat penyembuhan luka pada tikus yang menderita diabetes. Hipotesis penelitian ini adalah sediaan hidrogel dengan kadar ibuprofen yang optimal diduga dapat mempercepat proses penyembuhan luka pada hewan tikus putih galur Wistar yang menderita diabetes.

METODE PENELITIAN

Jenis dan rancangan penelitian ini adalah eksperimental murni sederhana dengan rancangan acak lengkap pola searah. Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain Ibuprofen (Kalbe Farma), etanol 96% (Aldrich), carbopol (Brataco), CMC-Na (Brataco), Ca-alginat (Brataco), gliserol (Aldrich), TEA (Brataco), krim depilatori (Reckitt Bensckiser), akuades (Tirta Amarta), aloksan monohidrat (Sigma), etanol 70%, kalium

sorbat (Brataco), asam borat (Brataco), ketamin 10% (Kepro), *Nutrient Agar* (Oxoid), formalin 10% (Aldrich), larutan Harris Hematoxylin, larutan *acid* alkohol, larutan ammonium, larutan stok Eosin alkohol 1%, larutan *working* Eosin, heparin, reagen *Glucose* GOD FS (Diasys, Germany), akuabides, larutan standar glukosa, dan darah subjek uji.

Alat dan instrumen yang digunakan pada penelitian ini meliputi gelas beaker, *hotplate magnetic stirrer*, *stirrer*, skalpel, termometer, gelas ukur, plat *stainless steel*, corong, sentrifugator, aluminium foil, kapas, batang pengaduk, kabinet LAF, jarum ose, labu ukur, tabung sentrifugasi, mortir, stamper, spuit injeksi, pinset, gunting, *biopsy punch*, kaca objek dan kaca penutup, pipet tetes, *plastic wrap*, kaca bundar, mikrolab-200 (Merck), mikropipet (Socorex), tabung reaksi, Rheosys Merlyn VR, timbangan analitik (Ohaus), vortex (Wilten), dan mikroskop cahaya Olympus tipe BH-2 (Olympus Corp., Jepang).

Subjek uji pada penelitian ini adalah 6 ekor tikus putih jantan galur Wistar berusia 2 bulan dari Laboratorium Imono Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta, yang memiliki deviasi berat badan 30 g (150-180 g) dan kondisi yang sehat.

Pembuatan hidrogel *diabetic wound healing*

Formula basis hidrogel acuan yang digunakan yakni:

R/	Carbopol	1
	CMC-Na	0,5
	Ca-alginat	0,5
	Trietanolamin	sampai pH 7
	Gliserol	12,5
	Asam borat	0,5
	Kalium sorbat	0,2
	Etanol	10
	Akuades	ad 100

m f. gel (Yuliani, 2012).

Sediaan hidrogel yang digunakan penelitian ini terdiri dari 4 formula yakni: basis (Gel), hidrogel dengan kadar ibuprofen 1,25% (IBU 1); hidrogel dengan kadar ibuprofen 2,5% (IBU 2); hidrogel dengan kadar ibuprofen 5% (IBU 3).

Uji sterilitas

Uji sterilitas dilakukan dengan menggoreskan hidrogel ke media *Nutrient Agar* pada cawan petri menggunakan jarum ose secara zig-zag. Tiap petri kemudian dibungkus *plastic wrap* dan diinkubasi terbalik dalam LAF selama 24 jam.

Evaluasi sifat fisik

Uji daya sebar Sediaan sebanyak 0,5 g diletakkan di tengah kaca bundar. Kaca bundar lainnya dan pemberat dengan total bobot 125 g diletakkan di atas kaca bundar pertama dan didiamkan selama 1 menit. Diameter sediaan yang telah menyebar diukur (dengan mengambil nilai rata-rata setelah diukur dari 4 arah berbeda) dan diulangi sebanyak 3 kali.

Uji homogenitas Sediaan secukupnya diletakkan pada kaca objek lalu letakkan kaca objek lain di atas kaca objek pertama, tekan hingga keduanya merapat. Homogenitas sebarannya diamati. Diulangi sebanyak 3 kali.

Uji viskositas Viskositas dan rheologi sediaan hidrogel diukur menggunakan instrumen Rheosys Merlin VR dengan sistem *cone and plate*. Sediaan secukupnya diletakkan di atas *plate*, lalu *cone* diturunkan hingga menghimpit gel pada *plate*. Pengukuran viskositas dilakukan pada kecepatan putar 100 rpm.

Perlakuan terhadap hewan uji

Induksi aloksan pada tikus Larutan aloksan monohidrat 5% diinjeksikan secara intraperitoneal ke tikus jantan galur Wistar (umur 2 bulan dengan berat 150-180 g) yang telah dipuasakan selama 15 jam dengan dosis 150 mg/kgBB selama 2-3 hari berturut-turut. Darah diambil dari *orbital plexus* 24 jam setelah injeksi dan kadar gula darah tikus diukur (Pirbalouti *et al.*, 2010).

Pengukuran kadar gula darah tikus Kadar glukosa darah tikus diukur dengan instrumen mikrolab-200 pada panjang gelombang 546 nm. Pengukuran kadar glukosa darah tikus dilakukan dengan metode GOD-PAP (*Glucose Oxidase - Phenol Aminoantipiryn Peroxidase*) pada hari ke- 0, 1, dan akhir penelitian. Tiga ekor tikus yang kadar gula darahnya di atas 250 mg/dL digunakan untuk penelitian sebagai kelompok perlakuan (Pirbalouti *et al.*, 2010).

Perlakuan pemberian luka dan pemberian hidrogel ibuprofen pada tikus Enam ekor tikus yang digunakan dalam penelitian dibagi secara acak menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok perlakuan terdiri dari 3 ekor tikus diabetes dengan kadar gula darah > 250 mg/dL dan 3 ekor tikus tidak diabetes sebagai kelompok kontrol. Setiap tikus dianestesi dengan injeksi ketamin pada dosis 80 mg/kgBB secara *intramuscular*. Pada tiap tikus diberikan 5 luka eksisi menggunakan *biopsy punch* dengan diameter 3 mm. Luka dibuat pada punggung tikus yang sudah dicukur 48 jam sebelumnya. Kelima luka eksisi pada 1 ekor tikus diberi perlakuan berbeda, yaitu: Gel; IBU 1,25%; IBU 2,5%; IBU 5%; dan kontrol tanpa perlakuan. Hidrogel diaplikasikan sebanyak 0,1 mL pada luka eksisi dengan menggunakan spuit tanpa jarum

setiap 12 jam sampai luka menutup. Luka eksisi kemudian dimonitor dan persentase penutupan luka dihitung. Setelah luka sembuh, tikus dieuthanasia dengan injeksi ketamin dengan dosis 100 mg/kgBB. Kulit punggung diambil dengan ukuran 2x2 cm dan disimpan dalam pot berisi formalin 10%.

Uji histopatologi – pengecatan Hematoxylin-Eosin (HE) Sampel jaringan kulit tikus dari perlakuan diambil, dilakukan pengecatan dengan Hematoxylin Eosin, kemudian diamati histopatologinya secara mikroskopis dengan mikroskop cahaya Olympus tipe BH-2 yang terhubung dengan kamera Optilab v.2.1 (Micronos, Indonesia). Pembuatan preparat sampel jaringan kulit dilakukan oleh Bagian Patologi Anatomi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Tata cara analisis hasil

Analisis kuantitatif Pengukuran data kuantitatif yaitu waktu penyembuhan luka pada tikus dihitung dengan persamaan:

$$\% \text{ wound closure} = \frac{\text{area luka hari ke-0} - \text{area luka hari ke-n}}{\text{area luka hari ke-0}} \times 100 \%$$

Pengukuran % penutupan luka menggunakan aplikasi Image J dilakukan setiap hari dari awal pemberian luka hingga luka menutup. Waktu penyembuhan luka dianalisis secara statistik menggunakan *software R* i.386 3.2.5.

Analisis kualitatif Pengamatan pada uji histopatologi memberikan perbandingan hasil secara mikroskopis antara struktur kulit dari penyembuhan luka eksisi dan struktur kulit normal tikus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

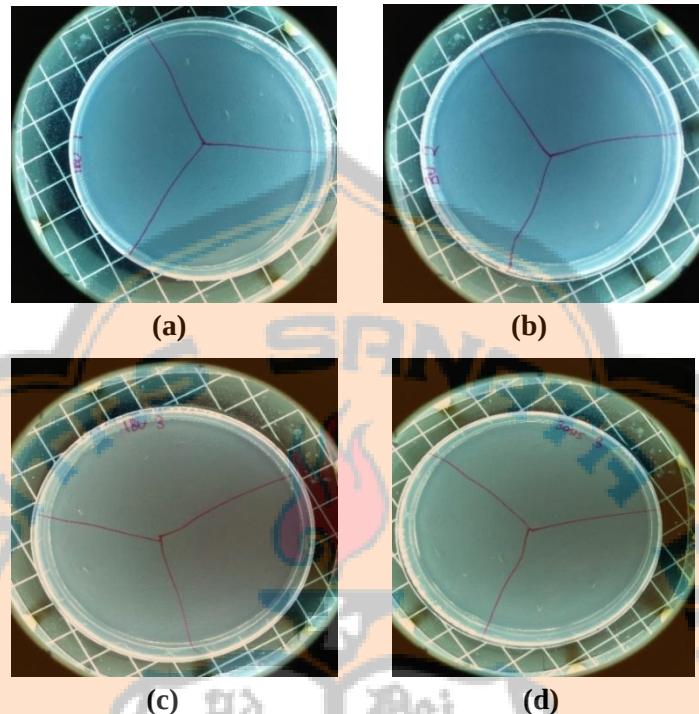
Formulasi Sediaan Hidrogel

Formula gel *diabetic wound healing* dalam penelitian ini diperoleh dari penelitian Formulasi Sediaan Hidrogel Penyembuh Luka Ekstrak Etanol Daun Binahong. Basis gel *diabetic wound* disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1kgf/cm² selama 15 menit karena pada kondisi tersebut mikroorganisme di dalamnya akan mati akibat degradasi asam nukleat dan denaturasi enzim (Adji, Zuliyanti, dan Larashanty, 2007).

Penambahan zat aktif ibuprofen ke dalam sediaan gel *diabetic wound healing* dilakukan dalam suasana aseptis di dalam LAF yang telah dibersihkan dengan etanol dan didiamkan di bawah sinar UV selama 24 jam. Dalam proses pembuatan hidrogel tidak

dilakukan sterilisasi terminal karena dikhawatirkan zat aktif ibuprofen akan rusak pada suhu tinggi.

Uji Sterilitas



Gambar 1. Hasil uji sterilitas: IBU 1,25% (a); IBU 2,5% (b); IBU 5% (c); dan Gel (d) (n=1)

Uji sterilitas dilakukan untuk mengetahui apakah formulasi yang dilakukan secara aseptis mampu menghasilkan sediaan hidrogel yang steril. Sediaan gel *diabetic wound* ini harus memenuhi persyaratan sterilitas karena akan diaplikasikan pada luka diabetes yang terbuka. Apabila sediaan ini tidak steril, dikhawatirkan dapat menimbulkan infeksi pada luka yang dapat menghambat proses penyembuhan luka diabetes bahkan mengakibatkan amputasi (Leung, 2007). Sediaan ini juga tidak mengandung antimikroba sehingga uji sterilitas ini perlu dilakukan untuk memastikan sediaan steril sehingga tidak mengganggu proses penyembuhan luka.

Hasil uji sterilitas terhadap Gel; IBU 1,25%; IBU 2,5%; dan IBU 5% menunjukkan keempat sediaan ini steril dengan tidak ditemukan adanya pertumbuhan mikroorganisme pada cawan petri seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1.

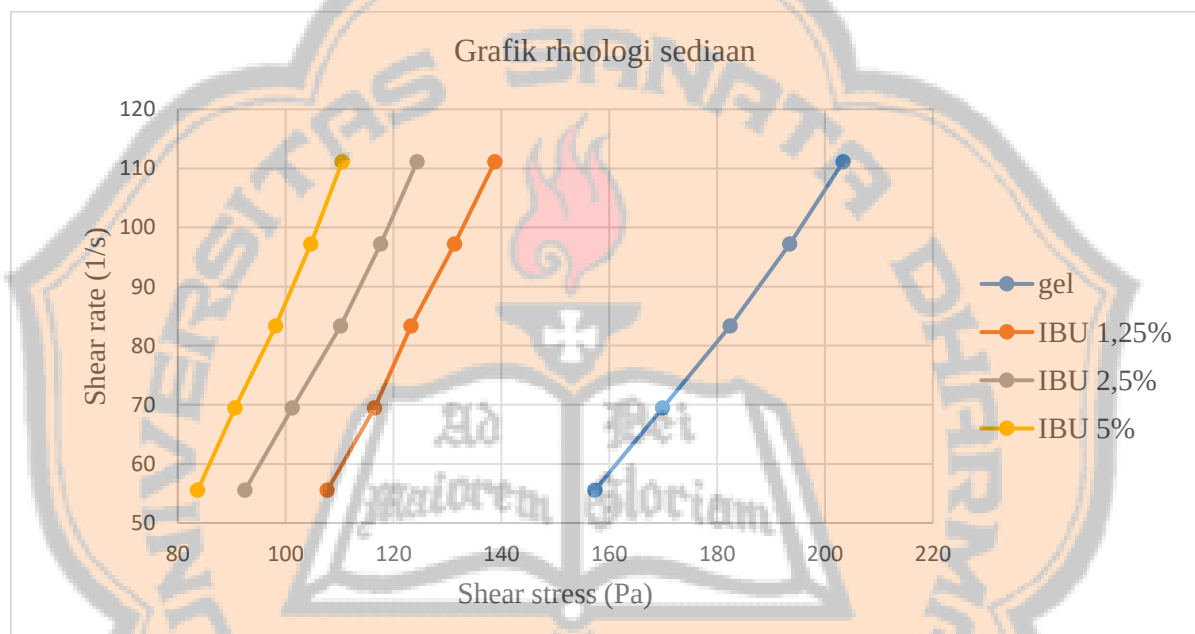
Evaluasi Sifat Fisik

Evaluasi sifat fisik yang dilakukan meliputi uji viskositas, uji daya sebar, dan uji homogenitas. Uji viskositas yang dilakukan dengan instrumen Rheosys Merlin VR pada 100 rpm, bertujuan untuk mengetahui nilai viskositas dan rheologi sediaan gel yang dibuat pada penelitian ini. Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui seberapa besar kemampuan

sediaan yang dibuat untuk menyebar ketika diaplikasikan pada luka. Uji homogenitas memastikan bahwa sediaan hidrogel yang dibuat homogen. Data hasil evaluasi sifat fisik sediaan dapat dilihat pada Tabel I.

Tabel I. Hasil evaluasi sifat fisik (n=3)

Sediaan	Viskositas $\pm$ SD (Pa.s)	Daya sebar $\pm$ SD (cm)	Homogenitas
Gel	1,830 $\pm$ 0,25	4,167 $\pm$ 0,17	Homogen
IBU 1,25%	1,249 $\pm$ 0,04	4,708 $\pm$ 0,27	Homogen
IBU 2,5%	1,120 $\pm$ 0,12	4,667 $\pm$ 0,14	Homogen
IBU 5%	0,994 $\pm$ 0,02	4,675 $\pm$ 0,01	Homogen



Gambar 2. Grafik rheologi sediaan gel

Grafik rheologi yang ditampilkan pada Gambar 2 menunjukkan bahwa hidrogel *diabetic wound* dalam penelitian ini termasuk dalam sifat alir non-Newtonian tipe pseudoplastis. Hal ini ditandai dengan bentuk grafik yang berbentuk agak melengkung naik ke atas yang menunjukkan *shear stress* meningkat seiring dengan meningkatnya *shear rate*.

Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Hidrogel yang telah dibuat dan diuji sifat fisisnya kemudian diuji aktivitasnya pada luka eksisi yang dibuat pada punggung tikus. Tikus yang digunakan adalah tikus jantan galur Wistar, spesies *Rattus norvegicus* yang berusia 2 bulan dengan deviasi berat badan 30 g (150-180 g) dan kondisi fisiologis yang sehat. Tikus jantan dipilih karena kondisi hormonal tikus jantan relatif stabil sehingga tidak banyak memengaruhi metabolisme dalam tubuhnya (Baroroh, Aznam, dan Susanti, 2011). Penentuan galur, jenis kelamin, berat badan, dan usia tikus dilakukan dengan tujuan meminimalisir faktor-faktor pengacau yang dapat

memengaruhi hasil penelitian. Enam ekor tikus yang digunakan dalam penelitian dibagi secara acak menjadi 2 kelompok yakni kelompok perlakuan dengan kondisi diabetes (kadar gula darah > 250 mg/dL) dan kelompok kontrol dengan kondisi fisiologis yang normal.

Aloksan berfungsi sebagai induktor diabetes pada tikus dengan mekanisme merusak sel beta pankreas secara reversibel sehingga tubuh tidak bisa menghasilkan insulin dan menyebabkan kondisi hiperglikemia (Suarsana, Priosoeryanto, Bintang, dan Wresdiyati, 2010). Sebelum memberikan perlakuan pada tikus yang akan digunakan untuk penelitian, dilakukan orientasi untuk mengetahui dosis aloksan yang mampu mempertahankan kadar glukosa darah tikus di atas 250 mg/dL selama penelitian (± 21 hari). Pada orientasi awal, diberikan injeksi aloksan dengan dosis 125 mg/kg BB, tetapi pada hari ke-4 kadar gula darah tikus turun hingga di bawah 250 mg/dL, sehingga dosis dinaikkan hingga 150 mg/kg BB. Dengan pemberian aloksan dosis 150 mg/kg BB, tikus masih memiliki kadar glukosa darah di atas 250 mg/dL pada pengukuran hari ke-21 setelah injeksi, sehingga dosis ini yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada tikus.

Kelompok tikus perlakuan diinjeksi aloksan dengan dosis 150 mg/kgBB secara intraperitoneal selama 3 hari kemudian kadar glukosa darah diukur dengan metode GOD-PAP. Prinsip metode ini adalah reaksi oksidasi glukosa oleh enzim glukosa oksidase (GOD) menjadi asam glukonat dan H_2O_2 . H_2O_2 yang terbentuk dengan adanya enzim peroksidase (PAP) akan membebaskan O_2 yang selanjutnya mengoksidasi akseptor kromogen (4-amino) yang mengandung quinonimin (senyawa bewarna merah) yang akan dideteksi pada instrumen mikrolab-200 (Baroroh, Aznam, dan Susanti, 2011). Kadar gula darah semua tikus pada hari ke-0 berkisar antara 59-75 mg/dL. Setelah diinjeksi aloksan, kadar gula darah pada hari ke-1 menunjukkan rentang 482-783 mg/dL dan pada akhir penelitian kadar gula darah berada pada rentang 256-564 mg/dL.

Setelah mencukur kulit tikus dengan krim depilatori, tikus didiamkan selama 48 jam sebelum diberi luka eksisi untuk memastikan tidak ada lagi zat depilatori yang tersisa dan dapat memengaruhi hasil penelitian. Sebelum diberi luka eksisi, tikus dianestesi dengan ketamin dosis 80 mg/kgBB secara intramuskular untuk menjamin tikus tidak merasakan sakit dan memudahkan dalam pemberian luka eksisi. Luka eksisi dibuat dengan menggunakan *biopsy punch* dengan diameter 3 mm dengan tujuan agar setiap luka memiliki ukuran yang seragam sehingga meminimalisir faktor yang dapat mengacaukan hasil penelitian. Luka dibuat pada sisi kanan (2 luka) dan sisi kiri (3 luka) pada punggung tikus dengan jarak yang cukup antar luka sehingga pengaplikasian gel tidak tumpang tindih.

Tikus dieuthanasia dengan injeksi ketamin dosis 100 mg/kgBB setelah semua luka menutup yang ditunjukkan dengan persentase penutupan luka mencapai 100%. Kulit punggung tikus diambil dan kemudian disimpan dalam pot berisi 10% formalin untuk selanjutnya dibuat menjadi preparat dengan pengecatan HE dan diamati histopatologinya.

Waktu Penyembuhan Luka

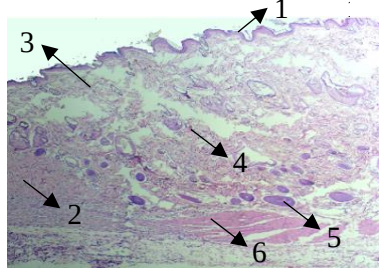
Tabel II. Rata-rata waktu penyembuhan luka (n=3)

Perlakuan luka	Rata-rata waktu penyembuhan luka (hari)	
	Tikus normal	Tikus diabetes
Kontrol	12±1,00	16±3,46
Basis (Gel)	12±1,53	15±3,46
IBU 1,25%	12±1,00	15±2,65
IBU 2,5%	12±1,53	19±7,00
IBU 5%	11±1,53	12±2,08

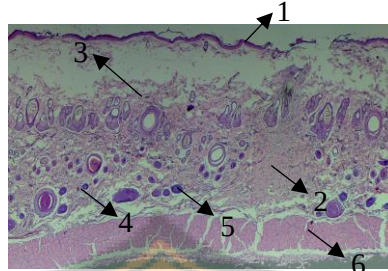
Data berupa jumlah hari yang dibutuhkan untuk mencapai penutupan luka 100% (waktu penyembuhan), dianalisis secara statistik untuk melihat apakah ada perbedaan bermakna antara waktu penyembuhan pada luka yang diberikan basis, gel ibuprofen, dan luka kontrol pada kelompok kontrol (normal) maupun kelompok diabetes. Hasil statistika menunjukkan bahwa waktu penyembuhan luka yang diaplikasikan Gel; IBU 1,25%; IBU 2,5%; IBU 5% maupun luka kontrol tidak berbeda signifikan pada tikus kontrol maupun pada tikus diabetes.

Uji Histopatologi

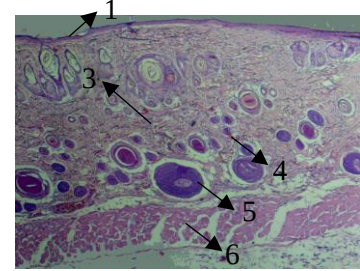
Uji histopatologi dilakukan saat % *wound closure* pada luka telah mencapai 100%.



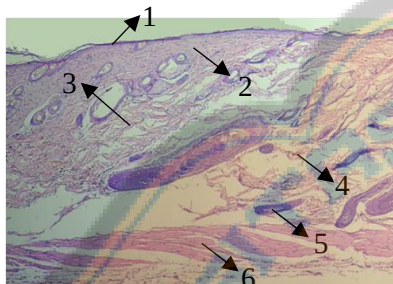
(Tikus normal luka kontrol)



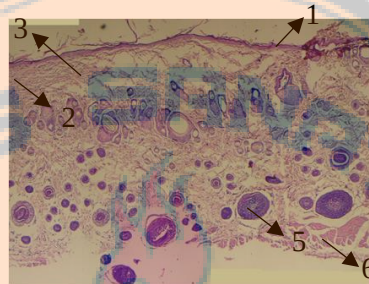
(Tikus normal Gel)



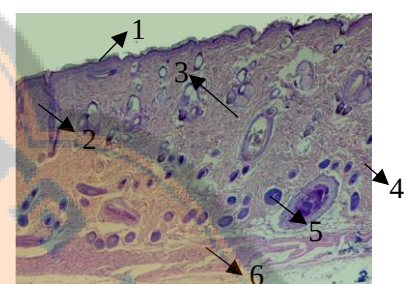
(Tikus normal IBU 1,25%)



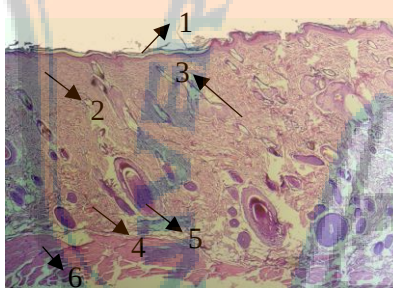
(Tikus diabetes luka kontrol)



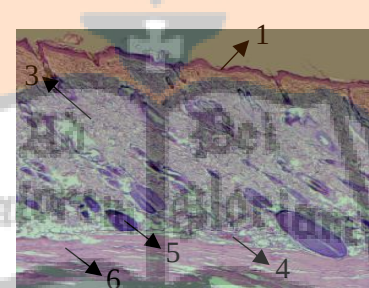
(Tikus diabetes Gel)



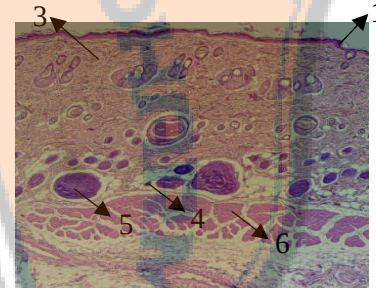
(Tikus diabetes IBU 1,25%)



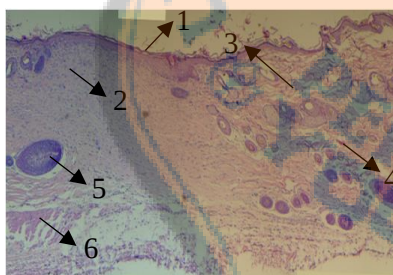
(Tikus normal IBU 2,5%)



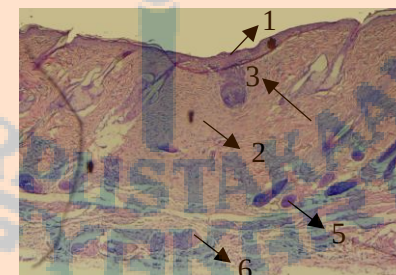
(Tikus normal IBU 5%)



(Kulit tikus normal)



(Tikus diabetes IBU 2,5%)



(Tikus diabetes IBU 5%)

Keterangan : 1 = lapisan epidermis
2 = jaringan granulasi
3 = serat kolagen

4 = pembuluh darah
5 = inti sel
6 = jaringan ikat

Gambar 3. Hasil uji histopatologi pengecatan Hematoxylin Eosin perbesaran 4x10 (n=1)

Tabel III. Intepretasi hasil histopatologi

Perlakuan	Waktu penyembuhan (hari)		Keterangan			
	Tikus normal	Tikus diabetes	Tikus normal		Tikus diabetes	
Kontrol	12±1,00	16±3,46	Serat kolagen tidak rapat, jaringan ikat sudah terbentuk; Terdapat jaringan granulasi dan pembuluh darah yang menunjukkan proses penyembuhan luka mencapai tahap proliferasi		Serat kolagen tidak rapat dan teratur; Terdapat jaringan granulasi, jaringan ikat, dan pembuluh darah menunjukkan proses penyembuhan luka mencapai awal fase proliferasi	
Gel	12±1,53	15±3,46	Serat kolagen tidak rapat dan teratur, lapisan epidermis belum menutup sempurna; Terdapat jaringan granulasi dan pembuluh darah menunjukkan proses penyembuhan luka mencapai tahap proliferasi		Serat kolagen tidak rapat dan teratur, masih terdapat jaringan granulasi, dan jaringan ikat belum terbentuk sempurna menunjukkan proses penyembuhan luka mencapai tahap proliferasi	
IBU 1,25%	12±1,00	15±2,65	Serat kolagen teratur dan rapat, tidak ada jaringan granulasi; Jaringan ikat dan lapisan epidermis terbentuk sempurna yang menunjukkan proses penyembuhan luka mencapai tahap <i>remodelling</i>		Serat kolagen cukup teratur tetapi masih sedikit kurang rapat, terdapat sedikit jaringan granulasi; Lapisan epidermis dan jaringan ikat sudah terbentuk sempurna yang menunjukkan proses penyembuhan luka mencapai tahap <i>remodelling</i>	
IBU 2,5%	12±1,53	19±7,00	Serat kolagen kurang rapat dan teratur, masih terdapat jaringan granulasi; Jaringan ikat dan lapisan epidermis telah terbentuk. Hal ini menunjukkan proses penyembuhan luka mencapai tahap proliferasi akhir		Serat kolagen tidak rapat, jaringan granulasi masih luas, jaringan ikat belum terbentuk sempurna menunjukkan proses penyembuhan luka mencapai tahap proliferasi	

Perlakuan	Waktu penyembuhan (hari)		Keterangan	
	Tikus normal	Tikus diabetes	Tikus normal	Tikus diabetes
IBU 5%	11±1,53	12±2,08	Serat kolagen kurang rapat dan teratur, tidak terdapat jaringan granulasi; Sudah terbentuk jaringan ikat dan lapisan epidermis. Hal ini menunjukkan proses penyembuhan luka telah mencapai tahap awal <i>remodelling</i>	Serat kolagen tidak teratur dan kurang rapat; Terdapat Jaringan granulasi; Jaringan ikat dan lapisan epidermis telah terbentuk. Hal ini menunjukkan proses penyembuhan luka mencapai tahap proliferasi
Tanpa perlakuan	-	-	Bagian-bagian struktur kulit tikus lengkap (tanpa jaringan granulasi) karena tidak mengalami proses luka	

Hasil uji histopatologi di atas menunjukkan bahwa luka pada tikus normal maupun tikus diabetes yang diaplikasikan IBU 1,25% memberikan hasil yang lebih baik dan mendekati struktur kulit normal tikus dibandingkan dengan luka kontrol dan luka yang diaplikasikan Gel, IBU 2,5%, dan IBU 5%. Hal ini terjadi karena pada luka yang diaplikasikan IBU 2,5% dan IBU 5%, tingginya kadar ibuprofen menyebabkan fase inflamasi terlalu dihambat sehingga menekan beberapa *inflammatory agent* yang diperlukan untuk penyembuhan luka. Pada tahap inflamasi, mediator PGE₂ akan mengaktivasi sitokin proinflamasi dan sel inflamasi lainnya yang akan merekrut di area luka (Ricciotti & FitzGerald, 2011). *Growth factor* yang teraktivasi pada tahap inflamasi akan menginduksi keratinosit dan fibroblas yang penting untuk proliferasi jaringan dan pembentukan kolagen (matriks ekstraseluler) (Hamed *et al.*, 2002).

Sitokin proinflamasi dan sel-sel inflamasi berperan dalam menginduksi sekresi dan ekspresi dari MMPs termasuk MMP-9 yang berperan dalam migrasi seluler, kontraksi, dan apoptosis sel yang tidak diperlukan (Lobmann *et al.*, 2002). MMP-9 yang diekspresikan berlebih pada penderita diabetes akan menghambat epitelisasi dan pembentukan jaringan granulasi pada luka karena dapat mendegradasi matriks ekstraseluler seperti kolagen, secara tak terkontrol (Lobmann *et al.*, 2002). Namun, keberadaan MMP-9 dalam jumlah yang cukup tetap diperlukan dalam penyembuhan luka karena berperan dalam angiogenesis, proliferasi jaringan, dan mengontrol keteraturan dari matriks ekstraseluler pada tahap *remodelling* (Falanga, 2005). Penekanan berlebihan terhadap agen-agen inflamasi, *growth*

factor, dan MMP-9 oleh IBU 2,5% dan IBU 5% menyebabkan proliferasi dan *remodelling* jaringan tidak terjadi secara optimal.

Fase penyembuhan luka yang diaplikasikan IBU 1,25% telah mencapai tahap *remodelling* (tahap terakhir penyembuhan luka) yang ditunjukkan oleh sudah terbentuknya serat kolagen yang cukup rapat dan teratur. Pada luka IBU 1,25% tikus normal, serat kolagen yang terbentuk lebih teratur dan rapat dibandingkan dengan luka IBU 1,25% tikus diabetes. Hal ini terjadi karena MMP-9 yang diekspresikan berlebih pada luka tikus diabetes menghasilkan proses penyembuhan luka yang lebih lambat dibandingkan tikus yang tidak diabetes (tikus normal) sehingga memungkinkan luka IBU 1,25% tikus diabetes masih berada pada awal fase *remodelling* sementara luka IBU 1,25% tikus normal sudah mendekati tahap akhir dari fase *remodelling*. Luka yang diberikan hidrogel ibuprofen menunjukkan struktur jaringan yang lebih baik dan serat kolagen yang jauh lebih rapat dibandingkan dengan luka kontrol dan luka Gel. Hasil histologi ini menunjukkan bahwa hidrogel ibuprofen mampu mempercepat penyembuhan luka pada tikus diabetes dan konsentrasi ibuprofen yang mampu menghasilkan penyembuhan luka yang paling baik, dilihat dari struktur jaringan kulit tikus adalah hidrogel konsentrasi ibuprofen sebesar 1,25%.

KESIMPULAN

Konsentrasi optimal ibuprofen yang mampu mempercepat penyembuhan luka diabetes adalah 1,25%. Hasil analisis statistika menunjukkan tidak ada perbedaan waktu penutupan luka yang bermakna antara luka yang diberikan hidrogel ibuprofen dengan luka kontrol tanpa perlakuan pada tikus diabetes maupun tikus kontrol. Uji histopatologi menunjukkan jaringan kulit bekas luka yang diberikan hidrogel ibuprofen 1,25% menghasilkan struktur kulit yang paling baik secara mikroskopis. Untuk penelitian selanjutnya, dapat dikembangkan ibuprofen dalam bentuk sediaan lain yang dapat mengoptimalkan penyembuhan luka, serta dapat diteliti perbandingan aktivitas antara ibuprofen dan NSAID selektif COX-2 dalam mempercepat penyembuhan luka diabetes.

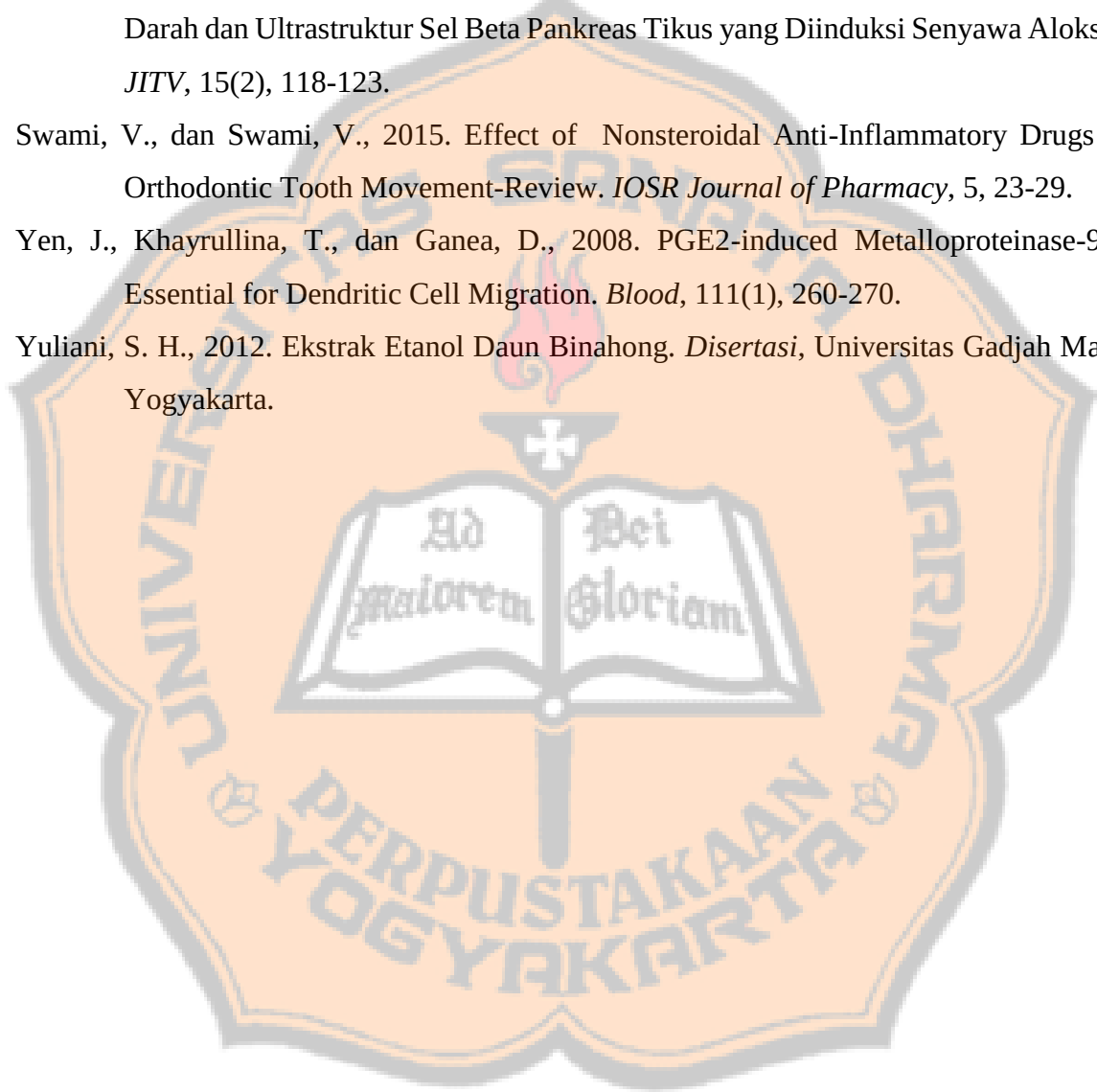
UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih ditujukan kepada Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Akademi Farmasi Theresiana, Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Gadjah Mada, dan Laboratorium Invvi yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adji, D., Zuliyanti, dan Larashanty, H., 2007. Perbandingan Efektivitas Sterilisasi Alkohol 70%, Inframerah, Otoklaf, dan Ozon Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis*. *Jurnal Sain Veteriner*, 25(1), 17-24.
- Artanti, P., Masdar, H., Rosdiana, D., 2015. Angka Kejadian Diabetes Melitus Tidak Terdiagnosis pada Masyarakat Kota Pekanbaru. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Kedokteran*, 2(2), 1-6.
- Baroroh, F., Aznam, N., dan Susanti, H., 2011. Uji Efek Antihiperglikemik Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia augusta*, Merr) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 1(1), 43-53.
- Bushra, R., dan Aslam, N., 2010. An Overview of Clinical Pharmacology of Ibuprofen. *Oman Medical Journal*, 25, 155-161.
- Cianfarani, F., Zambruno, G., Brogelli, L., Sera, F., Lacal, P. M., Pesce, M., *et al.*, 2006. Placenta Growth Factor in Diabetic Wound Healing : Altered Expression and Therapeutic Potential. *The American Journal of Pathology*, 169(4), 1167-1182.
- Falanga, V., 2004. The Chronic Wound : Impaired Healing and Solutions in the Context of Wound Bed Preparation. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 88-94.
- Falanga, V., 2005. Wound Healing and Its Impairment in the Diabetic Foot. *The Lancet*, 366, 1736-1743.
- Hamed, S., Bennett, C. L., Demiot, C., Ullmann, Y., Teot, L., Desmouliere, A., 2014. Erythropoietin, A Novel Repurposed Drug: An Innovative Treatment for Wound Healing in Patients with Diabetes Mellitus. *Wound Repair and Regeneration*, 22, 23-33.
- Leung, P. C., 2007. Diabetic Foot Ulcer – A Comprehensive Review. *Surgeon*, 5(4), 219-31.
- Lobmann, R., Ambrosch, A., Schultz, G., Waldmann, K., Schiweck, S., Lehnert, H., 2002. Expression of Matrix-Metalloproteinases and Their Inhibitors in the Wounds of Diabetic and Non-diabetic Patients. *Diabetologia*, 45, 1011-1016.
- Mihardja, L., Soetrisno, U., Soegondo, S., 2014. Prevalence and Clinical Profile of Diabetes Mellitus in Productive Aged Urban Indonesians. *Journal of Diabetes Investigation*, 5, 507-512.
- Pirbalouti, A. G., Azizi, S., Koochpayeh, A., Hamed, B., 2010. Wound healing Activity of *Malva sylvestris* and *Punica granatum* In Alloxan-induced Diabetic Rats. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, 67(5), 511-516.

- Ricciotti, E., dan FitzGerald, G. A., 2011. Prostaglandin and Inflammation, Artherosclerosis. *Thrombosis, and Vascular Biology*, 31, 986-1000.
- Santosa, A., dan Nikmah, I. M. N., 2014. Hubungan Pengetahuan tentang Pengendalian Kadar Gula Darah dengan Kejadian Ulkus Diabetik pada Pasien Diabetes Melitus. *Medisains*, 18(3), 1-11.
- Suarsana, I. N., Priosoeryanto, B., Bintang, M., dan Wresdiyati, T., 2010. Profil Glukosa Darah dan Ultrastruktur Sel Beta Pankreas Tikus yang Diinduksi Senyawa Aloksan. *JITV*, 15(2), 118-123.
- Swami, V., dan Swami, V., 2015. Effect of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs on Orthodontic Tooth Movement-Review. *IOSR Journal of Pharmacy*, 5, 23-29.
- Yen, J., Khayrullina, T., dan Ganea, D., 2008. PGE2-induced Metalloproteinase-9 is Essential for Dendritic Cell Migration. *Blood*, 111(1), 260-270.
- Yuliani, S. H., 2012. Ekstrak Etanol Daun Binahong. *Disertasi*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.



Lampiran 1. Proposal Penelitian

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai oleh hiperglikemia akibat kegagalan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya (Artanti *et al.*, 2015). Penyakit ini bersifat kronis dan jumlah penderitanya terus meningkat di seluruh belahan dunia seiring dengan bertambahnya populasi, usia, prevalensi obesitas, dan penurunan aktivitas fisik (Artanti *et al.*, 2015). Pada tahun 2014, prevalensi penderita diabetes melitus pada usia produktif di Indonesia mencapai 4,6% yang terdiri dari 1,1% yang telah terdiagnosis dan 3,5% yang tidak terdiagnosis (Mihardja *et al.*, 2014). Sekitar 15% dari keseluruhan jumlah penderita diabetes di Indonesia mengalami *diabetic foot ulcer* yang menyebabkan 23,5% dari seluruh penderita *diabetic foot ulcer* mengalami amputasi (Santosa & Nikmah, 2014).

Proses penyembuhan luka memerlukan keseimbangan antara akumulasi komponen matriks ekstraselular kolagen dan non-kolagen serta *remodelling* oleh *Matrix Metalloproteinases* (MMPs) (Lobmann *et al.*, 2002). Menurut Hamed *et al.* (2014), proses penyembuhan luka secara normal pada kulit terdiri atas 4 fase : fase koagulasi atau fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi yang ditandai dengan terbentuknya granulasi jaringan, dan yang terakhir fase *remodelling*.

Pada luka yang dialami oleh penderita diabetes, beberapa aspek dari proses penyembuhan luka dapat mengalami gangguan yakni terjadi disfungsi dari respon inflamasi, berkurangnya formasi granulasi jaringan dan terganggunya angiogenesis (Cianfarani *et al.*, 2006). Diabetes melitus menyebabkan epitelisasi tidak terjadi karena beberapa alasan yaitu berkurangnya level *fibronectin* dalam plasma dan meningkatnya intensitas dan durasi dari respon inflamasi (Hamed *et al.*, 2014). Diabetes melitus berasosiasi dengan kerusakan seluler menghambat fibroblas untuk membentuk matriks ekstraselular dan keratinosit untuk epitelisasi luka (Hamed *et al.*, 2014). Cairan pada luka kronis pada penderita diabetes mengandung sejumlah besar matriks metalloproteinase (MMP) termasuk MMP-9 yang dapat merusak protein matriks ekstraselular sehingga menghambat penyembuhan luka (Falanga, 2004). Pada *diabetic ulcer* terjadi peningkatan konsentrasi MMP-9 hingga 14 kali lipat dari jumlah MMP-9 pada luka normal (Lobmann *et al.*, 2002).

Sediaan berbasis hidrogel bersifat *semioclusive* dan tersusun atas jaringan *cross-linked* dari polimer hidrofilik. Sediaan hidrogel didominasi oleh kandungan air dengan polimer untuk meningkatkan viskositas dan memfasilitasi zat aktif untuk melekat pada permukaan luka. Keuntungan dari sediaan hidrogel yaitu menjaga keseimbangan kelembaban dan memberikan efek sejuk yang dapat mengurangi rasa sakit pada luka kronis (Okan *et al.*, 2007).

Ibuprofen yang digunakan sebagai zat aktif pada sediaan hidrogel *diabetic wound healing* memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antipiretik, dan analgesik (Bushra & Aslam, 2010). Ibuprofen merupakan derivat asam propionat golongan NSAID yang bekerja sebagai inhibitor non-selektif terhadap siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX-2) (Swami & Swami, 2015). Menurut hasil penelitian, penghambatan siklooksigenase

diketahui dapat menyebabkan berkurangnya sekresi MMP-9 secara signifikan (Attiga *et al.*, 2000).

1.2 Rumusan Masalah

Berapa konsentrasi optimal ibuprofen dalam sediaan hidrogel *diabetic wound healing* yang mampu mempercepat penyembuhan luka pada tikus yang menderita diabetes?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui konsentrasi optimal ibuprofen dalam sediaan hidrogel *diabetic wound healing* yang mampu mempercepat penyembuhan luka pada tikus yang menderita diabetes.

1.4 Urgensi Penelitian

Penelitian ini berguna untuk mengembangkan suatu produk baru yang belum beredar di pasaran yakni sediaan hidrogel ibuprofen dengan kadar efektif yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka pada penderita diabetes sehingga mengurangi angka kejadian amputasi akibat ulkus diabetikum.

1.5 Kontribusi Penelitian

Penelitian ini diharapkan berkontribusi dalam pengembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang kefarmasian terkait dengan kadar optimal ibuprofen dalam sediaan hidrogel *diabetic wound healing*, sehingga dapat pula dijadikan sumber acuan yang dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya.

1.6 Luaran yang Diharapkan

Mendapatkan kadar efektif ibuprofen dalam sediaan hidrogel yang mampu mempercepat penyembuhan luka pada penderita diabetes.

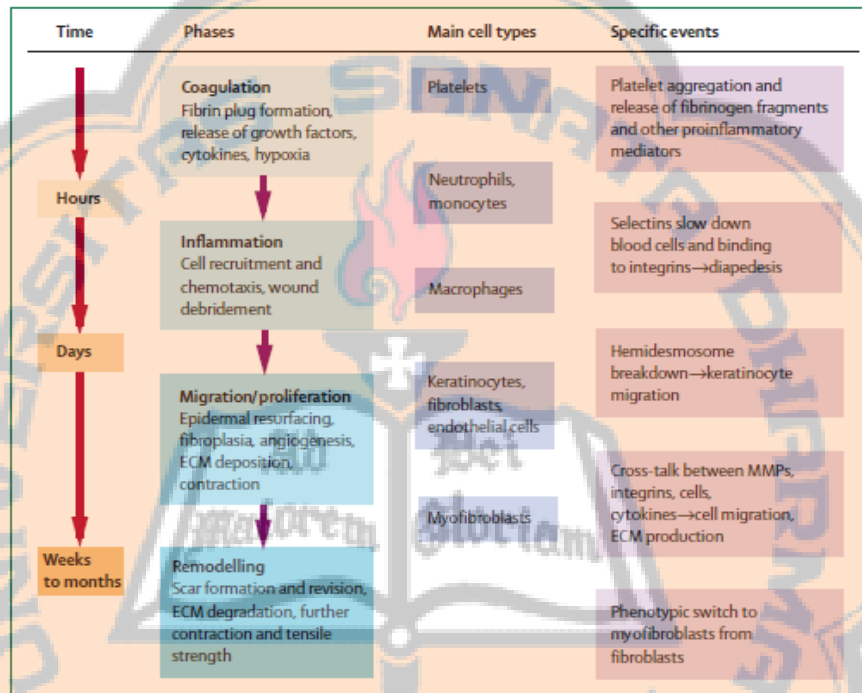
1.7 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat membuktikan secara ilmiah potensi ibuprofen dalam mempercepat penyembuhan luka pada penderita diabetes.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Proses Penyembuhan Luka

Luka didefinisikan sebagai kerusakan atau gangguan pada fungsi dan struktur dari anatomi normal. Luka menyebabkan kerusakan pada jaringan dan gangguan pada lingkungan di sekitar terjadinya luka (Velner *et al.*, 2009). Proses penyembuhan luka merupakan respon fisiologis normal terhadap luka dan umumnya mengarah pada pemulihan struktur dan fungsi normal pada jaringan yang rusak. Penyembuhan luka melibatkan aksi gabungan dari sejumlah jenis sel (interaksi dari beberapa jenis sel, termasuk sel inflamasi, keratinosit, dan sel endotel, *growth factor* dan enzim-enzim), matriks ekstraselular, dan mediator terlarut termasuk sitokin (Barati *et al.*, 2013).



Gambar 1. Tahap penyembuhan luka normal (Falanga, 2005).

Proses penyembuhan luka secara normal terdiri atas 4 fase: fase koagulasi atau hemostasis yang berlangsung singkat, fase inflamasi, fase proliferasi yang ditandai dengan terbentuknya granulasi jaringan, dan fase *remodelling*. Fase koagulasi dimulai segera setelah terjadinya luka, ditandai dengan agregasi platelet pada tempat luka untuk memfasilitasi formasi dari gumpalan fibrin, yang kemudian dengan bergabungnya fibronektin bertransformasi menjadi matriks sementara. Agregasi platelet menyekresi beberapa mediator khusus seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor* (TGF)- β 1, yang keseluruhannya berkontribusi pada penyembuhan luka dengan menginduksi dan mengaktifasi makrofag dan fibroblas pada lokasi luka. Fase inflamasi ditandai dengan keluarnya neutrofil dan makrofag dari pembuluh darah menuju lokasi luka dan memfagositosis jaringan yang rusak dan mikroorganisme oportunistik (Hamed *et al.*, 2014).

Komponen yang esensial pada fase proliferasi meliputi pembentukan protein matriks ekstraselular (ECM), angiogenesis, kontraksi, dan migrasi keratinosit (Falanga, 2005). Fase proliferasi diawali saat fase inflamasi berlangsung dan berakhir ketika granulasi

jaringan terbentuk pada luka (Hamed *et al.*, 2014). Angiogenesis pada fase proliferasi distimulasi oleh *growth factor* dengan cara menginduksi pertumbuhan, migrasi, dan proliferasi sel endotel yang berdekatan dengan luka (Hamed *et al.*, 2014). Formasi dari granulasi jaringan memungkinkan terjadinya epitelisasi dan penutupan kulit yang terluka (Hamed *et al.*, 2014).

Fase *remodelling* merupakan fase terakhir dari proses penyembuhan luka, ditandai dengan berakhirnya inflamasi dan proses pembentukan parut luka, pemulihan morfologi normal jaringan, penataan ulang matriks kolagen, dan apoptosis sel yang tidak diperlukan. *Wound-breaking strength* meningkat secara progresif selama 3 minggu pertama dari proses penyembuhan luka melalui desposisi kolagen, *remodelling*, dan kontraksi luka (Hamed *et al.*, 2014).

2.2 Proses Penyembuhan Luka Diabetes

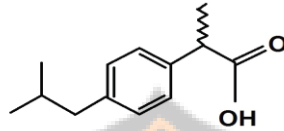
Terhambatnya proses penyembuhan luka pada penderita diabetes dapat disebabkan oleh banyak faktor (multifaktorial) seperti terganggunya migrasi normal leukosit ke lokasi luka yang mengakibatkan kolonisasi bakteri pada ulkus serta terganggunya formasi dari granulasi jaringan dan nekrosis jaringan (Galkowska *et al.*, 2006). Brem & Tomic-Canic (2007) menyatakan faktor-faktor yang memengaruhi defisiensi penyembuhan luka pada penderita diabetes yaitu berkurangnya atau terganggunya produksi *growth factor*, respon angiogenik, fungsi makrofag, akumulasi kolagen, fungsi barier epidermal, kuantitas dari granulasi jaringan, migrasi dan proliferasi keratinosit dan fibroblas, jumlah dari saraf epidermal, dan keseimbangan antara akumulasi komponen matriks ekstraselular dan *remodelling* oleh MMPs. Penghambatan penyembuhan luka diabetes juga disebabkan oleh meningkatnya apoptosis, berkurangnya angiogenesis, dan berkurangnya formasi dari serat-serat kolagen (Asai *et al.*, 2012). Kolagen merupakan salah satu komponen matriks ekstraselular yang disintesis oleh fibroblas pada fase proliferasi dan *remodelling*, berfungsi untuk memberikan kekuatan dan integritas pada jaringan dan memiliki peran penting pada penyembuhan luka (Enoch & Leaper, 2007).

Cairan pada luka kronis seperti luka pada penderita diabetes dapat menghambat proliferasi seluler dan angiogenesis serta mengandung sejumlah besar matriks metalloproteinase (MMP) (Falanga, 2004). Komposisi dan keteraturan dari matriks ekstraselular (ECM) diatur oleh MMP yang merupakan kumpulan endopeptidase yang secara struktural bersifat *zinc-dependent* yang mampu mendegradasi matriks ekstraselular (Chen *et al.*, 2007). MMP-9 atau gelatinase B merupakan salah satu jenis kolagenase tipe IV yang dapat mendegradasi kolagen yang terdapat pada membran basal dan memecah komponen matriks ekstraselular sehingga menyebabkan terhambatnya penyembuhan luka (Chen *et al.*, 2007).

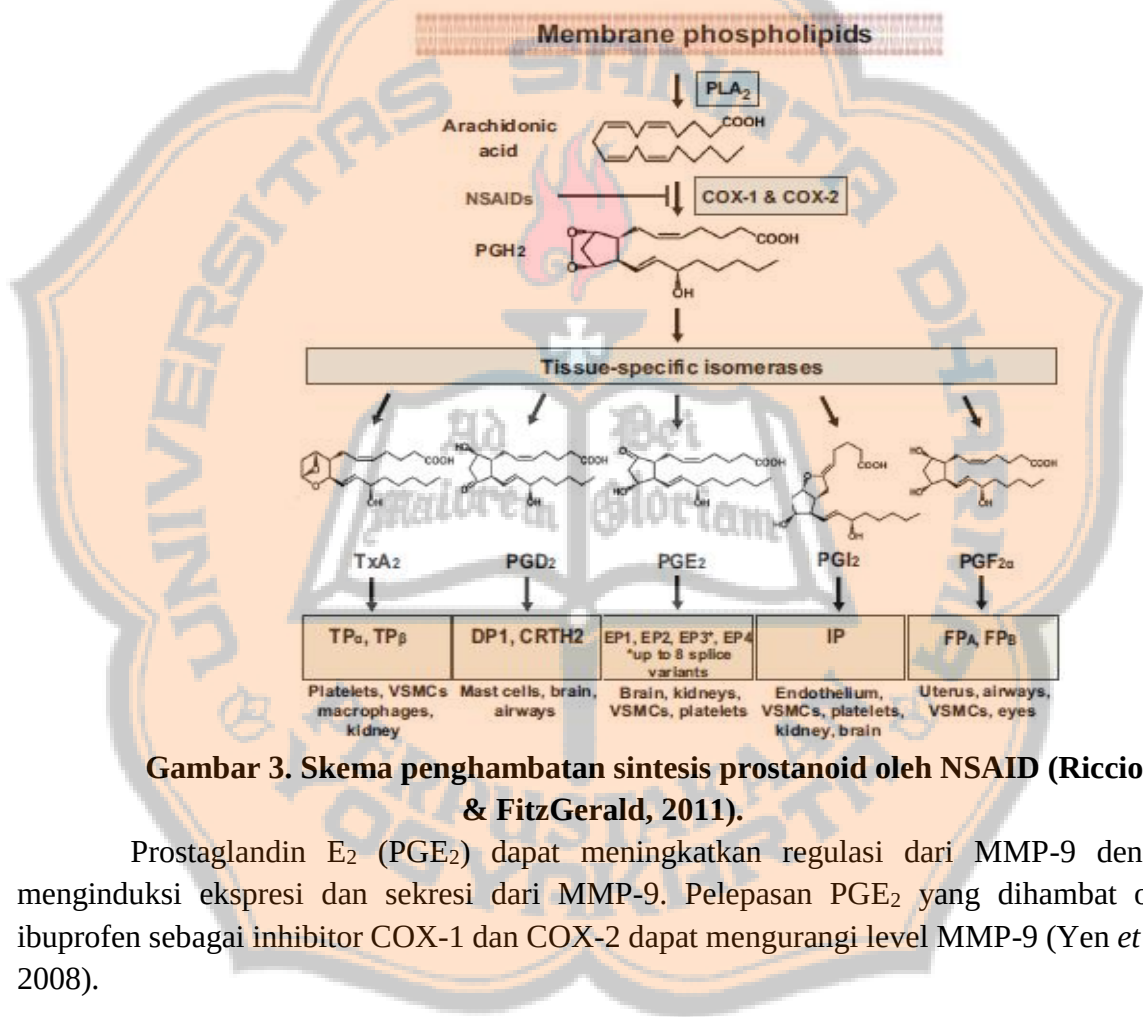
2.3 Ibuprofen

Ibuprofen merupakan derivat asam propionat golongan NSAID yang bekerja sebagai inhibitor non-selektif terhadap siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX-2) (Swami & Swami, 2015). COX-1 dan COX-2 mengatalisis sintesis berbagai prostanoid salah satunya adalah prostaglandin E₂ (PGE₂) dari asam arakidonat (Mazaleuskaya *et al.*, 2015). Prostaglandin E₂ merupakan mediator yang penting bagi

berbagai fungsi fisiologis dan berperan dalam tahap inflamasi karena memiliki keterkaitan dengan tanda-tanda klasik dari inflamasi yaitu kulit kemerahan, bengkak, dan nyeri (Ricciotti & FitzGerald, 2011). Produksi PGE_2 yang dimediasi COX-2 akan terhambat dengan pemberian ibuprofen sebagai inhibitor non-selektif siklooksigenase (Mazaleuskaya *et al.*, 2015).



Gambar 2. Struktur kimia ibuprofen (Bushra & Aslam, 2010).



Gambar 3. Skema penghambatan sintesis prostanoind oleh NSAID (Ricciotti & FitzGerald, 2011).

Prostaglandin E_2 (PGE_2) dapat meningkatkan regulasi dari MMP-9 dengan menginduksi ekspresi dan sekresi dari MMP-9. Pelepasan PGE_2 yang dihambat oleh ibuprofen sebagai inhibitor COX-1 dan COX-2 dapat mengurangi level MMP-9 (Yen *et al.*, 2008).

2.4 Hidrogel

Sediaan hidrogel merupakan sediaan *semioclusive* dan tersusun atas jaringan *cross-linked* dari polimer hidrofilik. Sediaan ini memperoleh kekuatannya dari interaksi nonkovalen dan radikal bebas antara polimernya, serta mampu mengikat air karena memiliki rantai samping yang bersifat hidrofil. Sediaan hidrogel didominasi oleh kandungan air dengan polimer untuk meningkatkan viskositas dan memfasilitasi zat aktif untuk melekat pada permukaan luka. Sifat *semioclusive* pada hidrogel mampu mempertahankan

kelembaban pada lingkungan luka sehingga dapat mempercepat penyembuhan luka akut maupun kronis dan meningkatkan pertumbuhan dari jaringan baru (Okan *et al.*, 2007).

Keseimbangan kelembaban pada luka dapat memfasilitasi pertumbuhan seluler dan proliferasi kolagen (Okan *et al.*, 2007). Sediaan yang menjaga kelembaban jaringan luka dapat meningkatkan kecepatan penyembuhan luka, mereduksi rasa sakit, dan mereduksi infeksi (Ovington, 2007). Keuntungan lainnya dari sediaan hidrogel yaitu menghidrasi jaringan, membantu pelepasan jaringan yang rusak dan material asing dari luka, *nonadhesive*, memberikan efek sejuk saat diaplikasikan, dan jernih secara visual (Johnston & Wilson, 2001).

2.5 Landasan Teori

Luka merupakan manifestasi dari kerusakan atau gangguan yang terjadi pada fungsi dan struktur anatomi normal. Proses penyembuhan luka secara normal terdiri dari 4 fase yang saling tumpang tindih yaitu fase koagulasi, fase inflamasi, fase proliferasi, dan yang terakhir fase *remodelling* (penataan ulang jaringan). Terhambatnya penyembuhan luka pada penderita diabetes salah satunya disebabkan oleh reduksi formasi serat kolagen pada fase proliferasi dan *remodelling*. Hal ini terjadi akibat meningkatnya konsentrasi matriks metalloproteinase-9 (MMP-9) pada penderita diabetes yang mampu mendegradasi matriks ekstraselular termasuk kolagen yang terdapat pada membran basal sehingga epitelisasi luka terhambat.

Ibuprofen sebagai inhibitor non-selektif terhadap siklooksigenase-1 dan siklooksigenase-2 mampu menghambat sintesis prostaglandin E₂ (PGE₂). PGE₂ merupakan salah satu mediator inflamasi yang mampu menginduksi sekresi dari enzim MMP-9. Pemberian ibuprofen mampu menghambat sekresi dan ekspresi dari MMP-9 melalui reduksi sintesis PGE₂.

Penambahan ibuprofen dengan kadar optimal sebagai zat aktif pada sediaan hidrogel *diabetic wound healing* akan mempercepat proses penyembuhan luka pada penderita diabetes.

2.6 Hipotesis

Sediaan hidrogel dengan kadar ibuprofen yang optimal diduga dapat mempercepat proses penyembuhan luka pada hewan tikus putih galur Wistar yang menderita diabetes.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian yang berjudul “Optimasi Kadar Ibuprofen dalam Sediaan Hidrogel sebagai *Diabetic Wound Healing* pada Luka Tikus Diabetes” ini termasuk penelitian eksperimental murni. Penelitian ini merupakan eksperimental murni sederhana dengan rancangan acak lengkap pola searah karena pengambilan sampel penelitian (subjek uji) dilakukan secara acak dan menggunakan satu variabel bebas.

3.2 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

1. Variabel penelitian

- a. Variabel bebas: konsentrasi ibuprofen dalam sediaan hidrogel *diabetic wound healing*.
- b. Variabel tergantung: kecepatan penyembuhan luka pada tikus diabetes.
- c. Variabel pengacau:
 - 1) Variabel pengacau terkendali: usia tikus, galur tikus, berat badan tikus, asupan makanan dan minuman tikus, jenis kelamin tikus, asal perolehan tikus, produsen obat dan bahan kimia untuk formula hidrogel ibuprofen, dan produsen bahan kimia aloksan;
 - 2) Variabel pengacau tak terkendali: kondisi patofisiologis hewan uji (tikus).

2. Definisi operasional

- a. Uji histopatologi: pengamatan kondisi kulit tikus secara mikroskopik dengan mikroskop cahaya dengan bantuan zat pewarna.
- b. Kecepatan penyembuhan luka: kecepatan penyembuhan luka diketahui dengan menghitung persentase *wound closure* pada luka eksisi tikus diabetes setelah diaplikasikan hidrogel *diabetic wound healing*.
- c. Kadar ibuprofen: merupakan zat aktif ibuprofen yang ditambahkan ke dalam sediaan hidrogel *diabetic wound healing* dengan tiga konsentrasi berbeda yakni 1,25; 2,5; dan 5 %.
- d. Sediaan hidrogel: sediaan yang mengandung carbopol, CMC-Na, Ca-alginat, trietanolamin, gliserol, asam borat, kalium sorbat, etanol, dan akuades sebagai basis yang kemudian ditambahkan zat aktif ibuprofen.
- e. Tikus diabetes: merupakan tikus putih jantan galur Wistar berumur 2 bulan dengan berat badan 150-180 g yang menderita diabetes dengan kadar gula darah > 250 mg/dL akibat induksi menggunakan aloksan.

3.3 Subjek dan Bahan Penelitian

1. Subjek penelitian

- a. Populasi: populasi pada penelitian ini adalah tikus putih jantan galur Wistar yang menderita diabetes dari Laboratorium Imono Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- b. Sampel: sampel pada penelitian ini adalah 6 ekor tikus putih jantan galur Wistar berusia 2 bulan dari Laboratorium Imono Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta, yang memiliki deviasi berat badan 30 g (150-180 g).

2. Bahan penelitian

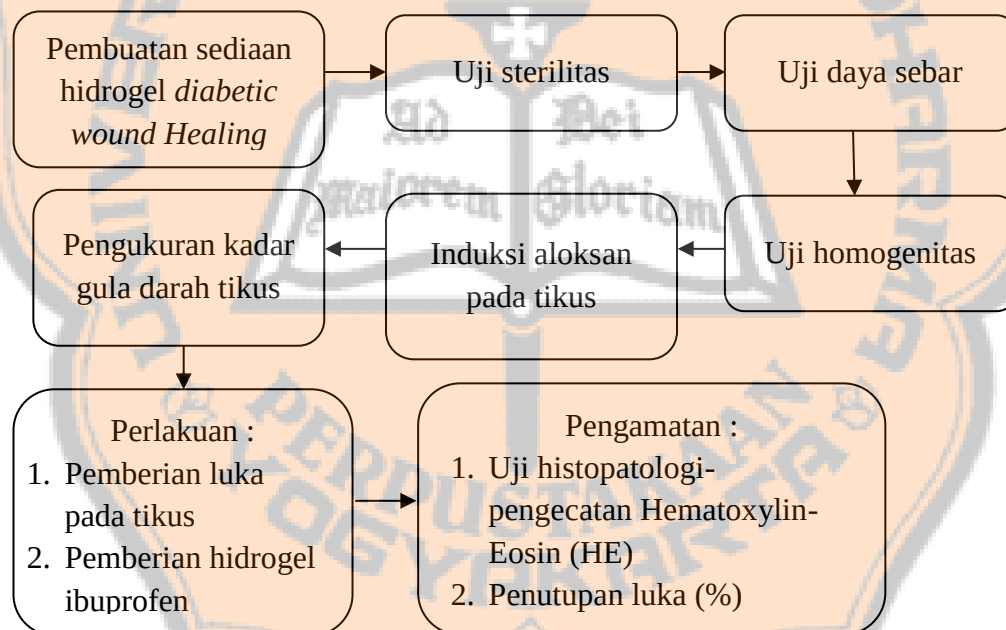
Ibuprofen sebagai zat aktif pada sediaan hidrogel; etanol 96% sebagai kosolven pada hidrogel; kalium sorbat dan asam borat sebagai pengawet pada hidrogel; carbopol,

CMC-Na, dan Ca-alginat sebagai basis sediaan hidrogel; gliserol sebagai humektan; TEA untuk meningkatkan pH sediaan gel; krim *Veet*[®] untuk mencukur bulu tikus; akuades; aloksan monohidrat untuk induksi diabetes pada tikus; etanol 70% untuk sterilisasi ruangan; ketamin untuk anestesi dan euthanasia tikus; *Nutrient Agar (Oxoid)* untuk uji sterilitas sediaan; formalin 10% sebagai pengawet jaringan kulit; larutan Harris Hematoxylin, larutan *acid* alkohol, larutan ammonium, larutan stok Eosin alkohol 1%, dan larutan *working* Eosin digunakan untuk uji histopatologi; heparin sebagai antikoagulan; reagen Glucose GOD FS, akuabides, larutan standar glukosa, dan darah subjek uji untuk mengukur kadar gula darah tikus.

3.4 Alat Penelitian

Gelas beker, *hotplate magnetic stirrer*, *stirrer*, skalpel, termometer, gelas ukur, plat *stainless steel*, corong, sentrifugator, aluminium foil, kapas, batang pengaduk, kabinet LAF, jarum ose, labu ukur, tabung sentrifugasi, mortir, stamper, spuit injeksi, pinset, gunting, *biopsy punch*, kaca objek dan kaca penutup, pipet tetes, *plastic wrap*, kaca bundar, microlab-200, mikropipet, tabung reaksi, vortex, dan mikroskop cahaya.

3.5 Bagan Kerja Penelitian



Gambar 4. Skema tata cara penelitian

3.6 Tata Cara Penelitian

1. Pembuatan hidrogel *diabetic wound healing*

Formula basis hidrogel acuan yang digunakan yakni:

R/	Carbopol	1
	CMC-Na	0,5
	Ca-alginat	0,5
	Trietanolamin	sampai pH 7
	Gliserol	12,5

Asam borat	0,5
Kalium sorbat	0,2
Etanol	10
Akuades	ad 100

m f. gel

Sediaan yang akan dibuat adalah sediaan hidrogel dengan zat aktif ibuprofen (IBU) dengan berbagai konsentrasi, dan basis hidrogel (gel). Formula masing-masing sediaan tersebut adalah sebagai berikut:

Tabel I. Formula sediaan hidrogel *diabetic wound healing*

Formula	Gel (g)	IBU 1 (g)	IBU 2 (g)	IBU 3 (g)
Basis	100	98,75	97,5	95
Ibuprofen	-	1,25	2,5	5

CMC-Na dikembangkan dalam akuades selama 24 jam, kemudian ditambahkan Ca-alginat dan diaduk hingga homogen (campuran A). Campuran A kemudian ditambahkan ke dalam larutan kalium sorbat dan asam borat dalam akuades yang telah ditambahkan carbopol 4% sebelumnya, aduk hingga homogen. Gliserol dimasukkan dan diaduk hingga homogen. Lalu ditambahkan 32 mL akuades kemudian TEA dimasukkan sedikit demi sedikit hingga mencapai pH 7 (campuran B). Campuran B disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit. Campuran B yang telah disterilisasi kemudian ditambahkan ibuprofen dengan konsentrasi 1,25; 2,5; dan 5 %.

2. Uji sterilitas

Kabinet LAF dibersihkan dengan menggunakan etanol 70% kemudian lampu UV dinyalakan selama 24 jam. Proses ini dilakukan selama 24 jam sebelum proses pembuatan hidrogel *diabetic wound*. Peralatan yang digunakan juga disterilkan sebelumnya menggunakan autoklaf pada 121°C selama 15 menit. *Nutrient Agar (Oxoid)* sebanyak 21 gram ditambah 750 mL akuades diaduk homogen dengan batang pengaduk. Media dipanaskan dengan *hotplate magnetic stirrer* sampai tercampur homogen. Media dituangkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 15 mL, kemudian seluruh media dalam tabung reaksi disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit dengan tekanan 1 kgf/cm² dan suhu 121°C. Media yang telah steril kemudian dituang ke cawan petri dan dibiarkan memadat. Hidrogel yang akan diuji sterilitasnya disiapkan, kemasannya dibersihkan dengan menggunakan alkohol 70%. Jarum ose dipanaskan di atas bunsen hingga memijar, kemudian didinginkan. Kemasan hidrogel dibuka secara aseptis dekat nyala bunsen, kemudian sedikit hidrogel dibuang, setelah itu diambil 1 ose gel dan digoreskan pada permukaan media agar secara zig-zag. Ose dipijarkan setiap akan digunakan untuk penggoresan. Tiap petri diberi label dan dibungkus *plastic wrap*, lalu diinkubasi terbalik dalam LAF selama 24 jam.

3. Uji daya sebar

Sediaan sebanyak 0,5 gram ditimbang dan diletakkan di tengah kaca bundar. Letakkan kaca bundar lainnya (yang telah ditimbang bersama dengan pemberat, sehingga total bobotnya 125 gram) di atas kaca bundar pertama dan diamkan selama 1 menit. Diameter

sediaan yang telah menyebar diukur (dengan mengambil nilai rata-rata setelah diukur dari 4 arah berbeda, vertikal, horizontal, dan kedua diagonalnya) dan diulangi sebanyak 3 kali.

4. Uji homogenitas

Sediaan secukupnya diletakkan pada kaca objek lalu letakkan kaca objek lain di atas kaca objek pertama, tekan hingga keduanya merapat. Homogenitas sebarannya diamati. Diulangi sebanyak 3 kali.

5. Induksi aloksan pada tikus

Menurut Pirbalouti *et al.* (2010), metode yang digunakan dalam injeksi aloksan yaitu tikus jantan galur Wistar umur 2 bulan dengan berat 150-180 g dipuasakan selama 15 jam, kemudian diinjeksi aloksan monohidrat yang dilarutkan pada akuades (5%) secara intraperitoneal dengan dosis 125 mg/kgBB selama 2-3 hari berturut-turut. Darah diambil dari *orbital plexus* 24 jam setelah injeksi dan kadar gula darah tikus diukur.

6. Pengukuran kadar gula darah tikus

Larutan standar, sampel dan blanko dibuat dengan komposisi sebagai berikut:

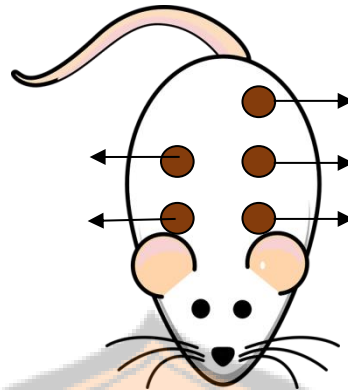
Tabel II. Komposisi larutan untuk uji gula darah tikus

Larutan	Standar (μL)	Blanko (μL)	Sampel (μL)
Akuabides	-	10	-
Reagen Glucose GOD FS	2000	1000	1000
Serum darah tikus	-	-	10
Standar glukosa	20	-	-

Larutan sampel dibuat untuk 3 kali replikasi. Semua larutan yang telah dibuat, divortex, dan didiamkan selama *operating time* (10 menit). Larutan-larutan kemudian diukur dengan microlab-200 pada panjang gelombang 546 nm. Pengukuran kadar glukosa darah tikus dilakukan pada hari ke- 0, 1, 4, 7, 14, 21. Tiga ekor tikus yang kadar gula darahnya di atas 250 mg/dL digunakan untuk penelitian sebagai kelompok perlakuan.

7. Perlakuan pemberian luka dan pemberian hidrogel ibuprofen pada tikus

Enam ekor tikus yang digunakan dalam penelitian dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok perlakuan terdiri dari 3 ekor tikus diabetes dengan kadar gula darah > 250 mg/dL dan 3 ekor tikus tidak diabetes sebagai kelompok kontrol. Tiap tikus dioleskan krim *Veet*[®] pada bagian punggungnya dan didiamkan selama 5 menit. Krim tersebut lalu dibilas dengan kapas yang dibasahi air bersih, sehingga tampak kulit punggung tikus tersebut. Tikus dibiarkan selama 48 jam sebelum diberi luka eksisi. Tikus jantan dianestesi dengan menambahkan ketamin dengan dosis 80 mg/kgBB secara *intramuscular* pada bagian paha. Tiga puluh menit setelah disuntikkan ketamin, kulit punggungnya dibasahi dengan etanol 70%. Pada tiap tikus diberi 5 luka eksisi menggunakan *biopsy punch* dengan diameter 3 mm ke punggung tikus yang sudah dicukur sebelumnya (hari ke-0). Kelima luka eksisi pada 1 ekor tikus diberi perlakuan berbeda, yaitu: Gel, IBU 1, IBU 2, IBU 3, dan kontrol tanpa perlakuan. Hidrogel *diabetic wound healing* dioleskan sebanyak 0,1 mL pada luka eksisi dengan menggunakan spuit tanpa jarum. Pemberian sediaan dilakukan tiap 12 jam sampai luka menutup. Luka eksisi kemudian dimonitor dan area luka dihitung. Setelah luka sembuh, tikus dieuthanasia dengan injeksi ketamin dengan dosis 100 mg/kgBB. Kulit punggung diambil dengan ukuran 2x2 cm dan disimpan dalam pot berisi formalin 10%.



Gambar 5. Pola perlakuan pada punggung tikus diabetes dan non-diabetes

Tabel III. Keterangan pola perlakuan pada punggung tikus diabetes dan non-diabetes

Keterangan	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3
a	Kontrol	IBU 2	Gel
b	Gel	IBU 3	IBU 1
c	IBU 1	Kontrol	IBU 3
d	IBU 2	IBU 1	Kontrol
e	IBU 3	Gel	IBU 2

8. Uji histopatologi – pengecatan Hematoxylin-Eosin (HE)

Sampel berupa jaringan kulit dari perlakuan diambil, dilakukan pengecatan dengan Hematoxylin Eosin, dilihat di bawah mikroskop untuk melihat perubahan histopatologisnya.

- Trimming. Pemotongan tipis jaringan dengan pisau skalpel.
- Dehidrasi. Dehidrasi dilakukan untuk mengeluarkan air yang terkandung dalam jaringan dengan menggunakan reagen pembersih, lalu dilakukan impregnasi (penetrasi parafin ke dalam jaringan).
- Embedding dan cutting. Jaringan yang sudah di dehidrasi diletakkan di atas sebuah balok kayu (*embedding*) sebagai alas pemotongan jaringan dengan pisau mikrotom (*cutting*).
- Staining. Rangkaian pewarnaannya adalah sebagai berikut: Xylol I (5 menit); Xylol II (5 menit); Xylol III (5 menit); alkohol absolut I (5 menit); alkohol absolut II (5 menit); akuades (1 menit); Harris Hematoxylin (20 menit); akuades (1 menit); *acid* alkohol (2-3 celupan); akuades (1 menit); akuades (15 menit); Eosin (2 menit); alkohol 96% I (3 menit); alkohol 96% II (3 menit); alkohol absolut III (3 menit); alkohol absolut IV (3 menit); Xylol IV (5 menit); Xylol V (5 menit).
- Mounting. Menutup kaca objek dengan kaca penutup
- Pembacaan slide dengan mikroskop. Pengamatan histopatologi dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya (Olympus tipe BH-2, Olympus Corp., Jepang).

3.7 Tata Cara Analisis Hasil

1. Analisis kuantitatif

Pengukuran data kuantitatif yaitu kecepatan penyembuhan luka pada tikus dihitung dengan persamaan:

Wound closure (%)

$$= \frac{(\text{area luka pada hari ke } - 0 - \text{area luka pada hari ke } - n)}{(\text{area luka pada hari ke } - 0)} \times 100\%$$

Pengukuran % penutupan luka dilakukan setiap 3 hari dari awal pemberian luka hingga luka menutup.

2. Analisis kualitatif

Pengamatan pada uji histopatologi akan memberikan perbandingan hasil secara mikroskopis antara struktur kulit dari penyembuhan luka eksisi dan struktur kulit normal tikus.



Lampiran 2. *Ethical Clearance*




UNIVERSITAS GADJAH MADA
LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGUJIAN TERPADU

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
(Ethical Clearance)

No. Sertifikat : 00084/04/LPPT/XU2016

Komisi Ethical Clearance untuk penelitian preklinik Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, setelah mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan penelitian:

Judul Penelitian	: Pembuatan dan Uji Aktivitas Sediaan Gel dan Patch Diabetic Wound Healing
Peneliti Utama	: Dr. Sri Hartati Yuliani, Apt.
Asal Instansi	: Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma
Lokasi Penelitian	: Laboratorium Imuno, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma

Telah dinyatakan memenuhi persyaratan etik untuk penelitian pada hewan coba. Komisi Ethical Clearance mempunyai hak untuk melakukan pemantauan selama penelitian berlangsung. Apabila terjadi perubahan dalam hal jenis dan jumlah hewan coba serta metode perlakuan terhadap hewan coba, peneliti wajib mengajukan permohonan amandemen kepada Komisi Ethical Clearance.

Yogyakarta, 03 Oktober 2016
Komisi Ethical Clearance
Ketua,

Prof. Dr. Sugyanto, Apt., SU.

Lampiran 3. Certificate of Analysis



Shasun®

Quality Control			
CERTIFICATE OF ANALYSIS			
Product Name : IBUPROFEN BP/Ph.Eur (S250 Grade)			
Batch No. :	BD1499143	Batch Size :	2000.00 Kg
Manufacturing date :	September 2014	Retest date :	August 2019
Date of Analysis :	11-09-2014	A.R.No. :	PTSD1499143
Specification No. :	SPDC-SCQV.023	Rev. No. :	12
Description of Packing :		Page No. :	Page 1 of 1
Description of Packing : Sea Worthy Film Drum			

S.No.	Test	Specification	Result
1.	Appearance	White or almost white, fine crystalline powder or colorless crystals	White, fine crystalline powder
2.	Solubility	Freely soluble in acetone, in methanol and in methylene chloride. Dissolves in dilute solutions of alkali hydroxides and carbonates. Practically insoluble in water	Complies
3.	Identification		
a)	Melting Point	75.0°C to 78.0°C	76.5 °C
b)	IR	The IR spectrum of sample should be concordant with the spectrum of Ibuprofen WS	Complies
4.	Appearance of solution	1% w/v solution in gradient should be clear and colourless	Complies
5.	Optical rotation	-0.05° to + 0.05°	0.00 °
6.	Related substances (by HPLC)- 1.Specified Impurities:		
a)	2-(4-isobutyl-phenyl) Propionic Acid (Impurity J)	NMT 0.05 % (Area %)	BDL (Disregard Limit: 0.03%)
b)	(2R,3S)-2-(3-(2-methylpropyl)phenyl) Propionic acid (Impurity A)	NMT 0.15 % (Area %)	BDL (Disregard Limit: 0.03%)
c)	(2R,3S)-2-(4-ethyl phenyl) Propionic acid (Impurity H) *	NMT 0.15 % (Area %)	Not detected
2.Other detectable impurities: 2.1 Identified Unspecified impurities:			
a)	2-(4-Butyl phenyl)propionic acid (Impurity B)	NMT 0.05 % (Area %)	BDL (Disregard Limit: 0.03%)

SOP-3QA-003/9-07/01 WEP:16/09/2013

Shasun Pharmaceuticals Limited
 (Formerly known as Shasun Chemicals and Drugs Ltd)
 R.S.No. 33 & 34, Shasun Road, Periyakalpet, Paducherry - 605 014, India.
 Phone : +91 413-2654100 Fax : +91 413-2655154
 E-mail : shasun@shasun.com



Quality Control

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name	IBUPROFEN BP/Ph.Eur (S250 Grade)		
Batch No.	IBD1409143	Batch Size	2000.00 Kg
Manufacturing date	September 2014	Expiry date	August 2019
Date of Analysis	11-09-2014	A.R.No.	PP/BD1409143
Specification No.	SPBC-SCQV-02	Rev. No.	02
Description of Packing	Sea Worthy Fibre Drum		
		Page No.	Page 2 of 3

S.No.	Test	Specification	Result
	b)(2S,3S)-2-(4-methyl phenyl) propanoic acid (Impurity D)	NMT 0.05 % (Area %)	BDL (Disregard Limit: 0.01%)
	c)(4-isobutyl)acetophenone (Impurity E)	NMT 0.05 % (Area %)	BDL (Disregard Limit: 0.01%)
	d)(2S,3S)-2-(4-(1-hydroxy-2-methyl propyl) phenyl) propanoic acid (Impurity L)	NMT 0.05 % (Area %)	BDL (Disregard Limit: 0.01%)
	e)(2S,3S)-2-(4-(2-methyl propyl) phenyl) propanoic acid (Impurity M)	NMT 0.05 % (Area %)	BDL (Disregard Limit: 0.01%)
	2.2 Any unspecified impurity	NMT 0.05 % (Area %)	BDL (Disregard Limit: 0.01%)
	3.Total Impurities	NMT 0.20% (Area %)	0.031 % (Area %)
7.	Heavy metals	NMT 10 ppm	LT 10 ppm
8.	Loss on drying	NMT 0.10 % (w/w)	0.09 % (w/w)
9.	Sulphated ash	NMT 0.10 % (w/w)	0.03 % (w/w)
10.	Assay by titration (Dry basis)	98.5 % - 101.0 % (w/w)	99.5 % (w/w)
ADDITIONAL TESTS			
a.	Bulk Density Un tapped	0.20 - 0.40 g/mL	0.39 g/mL
	Tapped (1350 tappage)	0.35 - 0.67 g/mL	0.43 g/mL
b.	Mean Particle Size	22.0 - 33.0 Microns	31.8 Microns

SOP-XQA-005/P-0701 WEP:16/09/2013

SCQV/F304/C

Shasun Pharmaceuticals Limited

(Formerly known as Shasun Chemicals and Drugs Ltd)

R.S.No. 33 & 34, Shasun Road, Periyakalpet, Paducherry - 605 014, India.

Phone : +91 413-2654100 Fax : +91 413-2655154

E-mail : shapd@shasun.com



Quality Control			
CERTIFICATE OF ANALYSIS			
Product Name : IBUPROFEN BP/Ph.Eur (S150 Grade)			
Batch No. : IBD1409143		Batch Size : 2000.00 Kg	
Manufacturing date : September 2014		Retest date : August 2019	
Date of Analysis : 11-09-2014		A.R.No. : FFIBD1409143	
Specification No. : SPEC-SCQV-423		Rev. No. : 02	Page No. : Page 3 of 3
Description of Packing : See Worthy 2000 Drums			

S.No.	Test	Specification	Result
c.	Residual solvents		
	(i) Acetone	NMT 100 ppm	2 ppm
	(ii) Isopropyl alcohol	NMT 250 ppm	BLD (LOD= 1.94 ppm)
	(iii) Hexanes	NMT 290 ppm	12 ppm
	(iv) Tri chloro ethylene	NMT 80 ppm	BLD (LOD= 1.27 ppm)
	(v) Methanol	NMT 500 ppm	Not Detected

* Impurity N is irrelevant to the process employed. The test included to comply with BP monograph.

† Not used in the process, not included for compliance with certificate of suitability.

Notes: NMT = Not more than LT = Less than BDL = Below Designated Limit BLD = Below Limit of Detection

LOD = Limit of Detection

Remarks: The material conforms to the specification.

	Prepared by	Reviewed by	Approved by
Signature	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>
Date	11/09/2014	11/09/2014	11/09/2014

SCP-QQA-063/P-01/01 WTP-14092013

SCQAF-2M/C

Shasun Pharmaceuticals Limited

(Formerly known as Shasun Chemicals and Drugs Ltd)

R.S.No. 33 & 34, Shasun Road, Periyakalpet, Puducherry - 605 014, India.

Phone : +91 413-2654100 Fax : +91 413-2655154

E-mail : shasun@shasun.com

Lampiran 4. Data Sifat Fisis Hidrogel

Hasil Uji Viskositas

Keterangan	Viskositas (Pa.S)			
	Gel	IBU 1	IBU 2	IBU 3
Replikasi 1	1,553	1,217	1,014	1,014
Replikasi 2	2,039	1,243	1,091	0,990
Replikasi 3	1,898	1,287	1,254	0,979
SD	0,250	0,035	0,123	0,018
Rata-rata	1,830	1,249	1,120	0,994

Hasil Uji Daya Sebar

Keterangan	Daya sebar (cm)			
	Gel	IBU 1	IBU 2	IBU 3
Replikasi 1	4,225	4,950	4,800	4,600
Replikasi 2	4,300	4,750	4,675	4,700
Replikasi 3	3,975	4,425	4,525	4,725
SD	0,170	0,265	0,138	0,066
Rata-rata	4,167	4,708	4,667	4,675

Lampiran 5. Data Wound Closure

Tikus 1	hari ke 1	2	3	4	5	6	7	8
kontrol	5.2184466	15.803765	25.55652	26.50578	28.2391	28.48069	30.09699	72.13593
gel	11.41675	16.209186	21.52918	27.49944	24.92376	24.81338	75.540966	78.5777
IBU 1	8.1010711	11.179123	16.29668	17.79141	15.35059	21.07504	26.020518	80.63385
IBU 2	10.769708	12.973234	16.2687	21.32714	25.91209	27.64281	77.287344	82.55337
IBU 3	8.0010134	22.548627	24.91821	32.33192	34.68425	36.01213	86.810163	92.1078

Tikus 1	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
kontrol	78.63164	83.5527	82.50754	79.46208	82.33293	83.58042	87.24533	89.7926	95.58887	100
gel	91.2297	92.56241	92.33389	93.97101	94.3384	96.57505	96.63956	98.17701	100	
IBU 1	89.57	91.50443	94.81875	97.5225	98.62503	98.70823	98.65802	100	100	
IBU 2	93.13901	94.92507	95.07551	96.74171	97.96033	100				
IBU 3	93.93646	97.05123	100	100						

Tikus 2	hari ke 1	2	3	4	5	6	7	8
kontrol	7.2567997	18.209651	34.11838	49.83329	54.65823	54.74389	58.099195	84.92597
gel	8.1680935	10.255615	6.257371	11.06259	35.87339	49.40362	65.748798	74.39015
IBU 1	11.231138	12.447045	26.8952	32.93228	32.50703	33.66944	48.65113	63.51243
IBU 2	11.875361	23.348633	28.94737	41.81549	43.44712	30.84667	41.238012	45.11973
IBU 3	5.5819288	6.8582315	8.007813	20.24708	14.83384	15.63629	26.650197	43.82491

Tikus 2	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
kontrol	91.17142	91.83244	95.79616	97.6158	97.36795	97.12048	96.20383	97.67932	99.41707	100
gel	81.05508	86.31918	91.3466	96.47639	96.60754	98.21923	98.31679	97.57955	100	
IBU 1	73.5062	95.14717	95.71953	96.30169	98.20504	97.07931	96.25679	98.34609	100	
IBU 2	48.17193	74.65383	80.42541	94.77668	96.06022	97.01537	96.38416	100	100	
IBU 3	86.5559	89.33583	93.47765	96.40341	98.69097	100	100	100		

Tikus 3	hari ke 1	2	3	4	5	6	7	8
kontrol	12.358118	13.37876	13.65256	16.79406	34.3883	56.38971	80.977131	88.6887
gel	10.36461	13.651415	14.41109	21.08245	53.95018	90.68732	90.690001	94.3457
IBU 1	9.9214765	10.324784	22.86046	39.93498	62.81566	81.26739	87.426152	94.27393
IBU 2	4.8076923	7.9011065	8.634244	-20.8599	-113.686	-100.023	-186.3489	-341.717
IBU 3	6.2857506	9.5052737	11.59824	36.63675	57.83133	76.54767	90.725455	97.21902

Tikus 3	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
kontrol	89.395	92.031	97.21	100															
gel	97.756	98.79	100																
IBU 1	97.035	98.93	99.82	100															
IBU 2	-342	-253.8	-185.3	-183.2	-168.8	-157.5	-53.98	-75.5	-46.1	-5.86	37.22	66.96	86.97	96.1	97.6	96.29	96.6	97.74	100
IBU 3	97.589	100	100																

Tikus 4	hari ke 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
kontrol	9.4266147	15.890528	23.88775	37.17295	42.27661	44.8254	84.290102	87.49125	92.796	97.895	97.91	100
gel	10.563243	12.874828	15.61392	23.83988	24.34399	24.54124	89.93264	90.04988	94.642	96.812	98.42	100
IBU 1	8.5009386	10.219052	18.59852	21.76264	24.08169	35.10384	74.01634	83.08985	89.985	94.091	98.15	100
IBU 2	12.854778	14.97294	23.9667	27.79252	34.51407	40.734	86.523091	87.00238	91.867	95.892	100	
IBU 3	10.39039	10.470004	10.94123	18.77612	32.54812	56.61863	84.483794	88.40146	90.981	100	100	

Tikus 5	hari ke 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
kontrol	7.4518259	13.496547	23.54774	28.1822	31.64263	75.66831	86.693679	90.68844	96.842	97.01	97.24	97.729	100
gel	5.9110971	10.539933	22.2531	27.26302	35.6872	38.98476	86.045016	90.02172	90.411	94.231	96.04	98.176	100
IBU 1	4.778157	12.908325	19.38609	26.82842	27.25327	28.90424	29.488317	77.41034	90.485	97.15	96.18	97.454	100
IBU 2	13.829919	15.630713	15.85217	25.84682	26.43849	28.61307	93.671074	94.89228	95.336	97.289	96.93	97.683	100
IBU 3	10.205993	12.487941	14.44313	15.89435	19.44729	20.08075	20.157593	78.1077	84.394	97.106	98.31	100	

Tikus 6	hari ke 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
kontrol	8.3810972	8.6740379	10.94876	33.2835	54.63418	83.15597	91.538999	94.36007	95.794	97.467	100
gel	3.3120559	4.8893187	9.927991	11.06252	17.5113	66.18621	81.773172	92.75959	95.298	100	100
IBU 1	4.648727	9.1493225	10.45146	25.33099	32.73185	88.71644	89.066808	90.04169	91.063	96.137	100
IBU 2	5.293832	8.3061224	15.66342	18.5115	33.8904	65.7805	68.797544	93.61457	94.335	100	100
IBU 3	11.08566	17.427213	19.39893	26.80767	72.54375	82.04692	90.90632	91.8948	100	100	100

Keterangan : tikus 1 = tikus diabetes replikasi 1
 tikus 2 = tikus diabetes replikasi 2
 tikus 3 = tikus diabetes replikasi 3
 tikus 4 = tikus diabetes replikasi 1
 tikus 5 = tikus diabetes replikasi 2
 tikus 6 = tikus diabetes replikasi 3

Tikus	Replikasi	kontrol	Gel	IBU 1	IBU 2	IBU 3
Diabetes	1	18	17	16	14	11
	2	18	17	17	16	14
	3	12	11	12	27	10
	Rata-rata	16	15	15	19	12
	SD	3,464	3,464	2,646	7,000	2,082
Normal	1	12	12	12	11	10
	2	13	13	13	13	12
	3	11	10	11	10	9
	Rata-rata	12	12	12	12	11
	SD	1,000	1,528	1,000	1,528	1,528

Lampiran 6. Uji Statistika

Data1 = data tikus diabetes

```
> require(car)
Loading required package: car
> library("nortest")
> data1=edit(data.frame())
> data1
  kontrol gel IBU1 IBU2 IBU3
1      18  17   16   14   11
2      18  17   17   16   14
3      12  11   12   27   10
> pearson.test(data1$kontrol)

Pearson chi-square normality test

data: data1$kontrol
P = 3.6667, p-value = 0.05551

> pearson.test(data1$gel)

Pearson chi-square normality test

data: data1$gel
P = 3.6667, p-value = 0.05551

> pearson.test(data1$IBU1)

Pearson chi-square normality test

data: data1$IBU1
P = 1, p-value = 0.3173
|

> pearson.test(data1$IBU2)

Pearson chi-square normality test

data: data1$IBU2
P = 1, p-value = 0.3173
```

```

> pearson.test(data1$IBU3)

Pearson chi-square normality test

data: data1$IBU3
P = 1, p-value = 0.3173

> data1faktor=stack(data1)
> data1faktor
  values ind
1     18 kontrol
2     18 kontrol
3     12 kontrol
4     17   gel
5     17   gel
6     11   gel
7     16  IBU1
8     17  IBU1
9     12  IBU1
10    14  IBU2
11    16  IBU2
12    27  IBU2
13    11  IBU3
14    14  IBU3
15    10  IBU3

> leveneTest(values~ind,data=data1faktor,center=mean)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = mean)
  Df F value Pr(>F)
group 4  3.0242 0.07094
    10
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

> summary(aov(values~ind,data=data1faktor))
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
ind      4  82.67   20.67    1.225   0.36
Residuals 10 168.67   16.87

```

Data2 = data tikus normal

```
> data2=edit(data.frame())
> data2
  kontrol gel IBU1 IBU2 IBU3
1      12  12   12   11   10
2      13  13   13   13   12
3      11  10   11   10    9
> pearson.test(data2$kontrol)
```

Pearson chi-square normality test

```
data: data2$kontrol
P = 1, p-value = 0.3173
```

```
> pearson.test(data2$gel)
```

Pearson chi-square normality test

```
data: data2$gel
P = 1, p-value = 0.3173
```

```
> pearson.test(data2$IBU1)
```

Pearson chi-square normality test

```
data: data2$IBU1
P = 1, p-value = 0.3173
```

```
> pearson.test(data2$IBU2)
```

Pearson chi-square normality test

```
data: data2$IBU2
P = 1, p-value = 0.3173
```

```
> pearson.test(data2$IBU3)
```

```
Pearson chi-square normality test
```

```
data: data2$IBU3
```

```
P = 1, p-value = 0.3173
```

```
> data2faktor=stack(data2)
```

```
> data2faktor
```

```
  values ind
```

```
1      12 kontrol
```

```
2      13 kontrol
```

```
3      11 kontrol
```

```
4      12      gel
```

```
5      13      gel
```

```
6      10      gel
```

```
7      12     IBU1
```

```
8      13     IBU1
```

```
9      11     IBU1
```

```
10     11     IBU2
```

```
11     13     IBU2
```

```
12     10     IBU2
```

```
13     10     IBU3
```

```
14     12     IBU3
```

```
15      9     IBU3
```

```
> leveneTest(values~ind,data=data2faktor,center=mean)
```

```
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = mean)
```

```
      Df F value Pr(>F)
```

```
group 4  0.4211 0.7902
```

```
      10
```

```
> summary(aov(values~ind,data=data2faktor))
```

```
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
```

```
ind      4  5.733   1.433   0.796  0.554
```

```
Residuals 10 18.000   1.800
```

Data3 = data tikus gabungan

```
> data3=edit(data.frame())
```

```
Error in edit.data.frame(data.frame()) :  
negative length vectors are not allowed
```

```
> data3=edit(data.frame())
```

```
> data3
```

```
 kontrolnormal gelnormal IBU1normal IBU2normal IBU3normal kontrolldiabetes geld diabetes
```

```
1          12          12          12          11          10          18          17
```

```
2          13          13          13          13          12          18          17
```

```
3          11          10          11          10          9          12          11
```

```
 IBU1diabetes IBU2diabetes IBU3diabetes
```

```
1          16          14          11
```

```
2          17          16          14
```

```
3          12          27          10
```

```
> data3faktor=stack(data3)
```



```

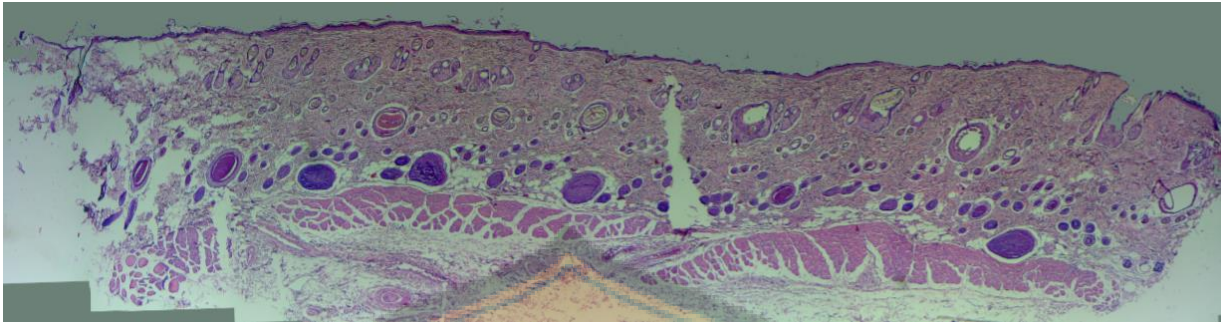
> data3faktor
  values      ind
1      12 kontrolnormal
2      13 kontrolnormal
3      11 kontrolnormal
4      12      gelnormal
5      13      gelnormal
6      10      gelnormal
7      12      IBU1normal
8      13      IBU1normal
9      11      IBU1normal
10     11      IBU2normal
11     13      IBU2normal
12     10      IBU2normal
13     10      IBU3normal
14     12      IBU3normal
15      9      IBU3normal
16     18 kontrolldiabetes
17     18 kontrolldiabetes
18     12 kontrolldiabetes
19     17      gelddiabetes
20     17      gelddiabetes
21     11      gelddiabetes
22     16      IBU1ldiabetes
23     17      IBU1ldiabetes
24     12      IBU1ldiabetes
25     14      IBU2ldiabetes
26     16      IBU2ldiabetes
27     27      IBU2ldiabetes
28     11      IBU3ldiabetes
29     14      IBU3ldiabetes
30     10      IBU3ldiabetes

> leveneTest(values~ind,data=data3faktor,center=mean)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = mean)
  Df F value    Pr(>F)
group 9  4.6821 0.001956 **
     20
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> summary(aov(values~ind,data=data3faktor))
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
ind      9  200.5   22.281    2.387 0.0504 .
Residuals 20  186.7    9.333
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Lampiran 7. Gambar Histopatologi

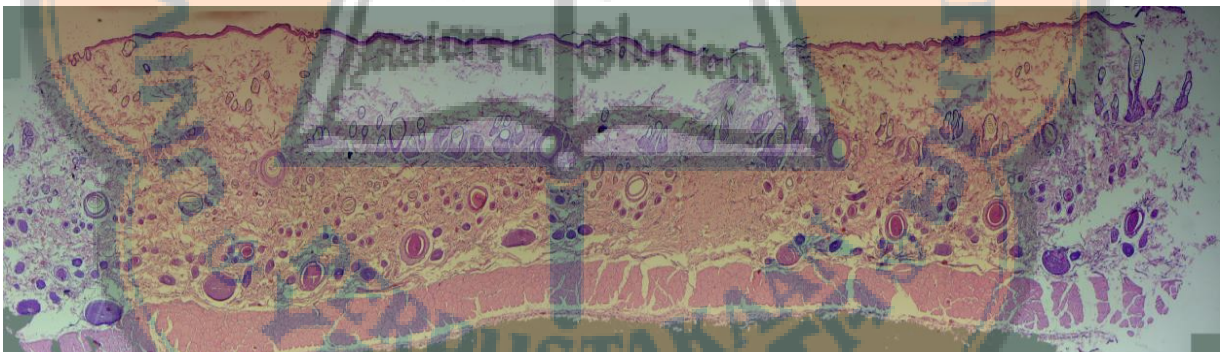
Tikus normal tanpa pelakuan



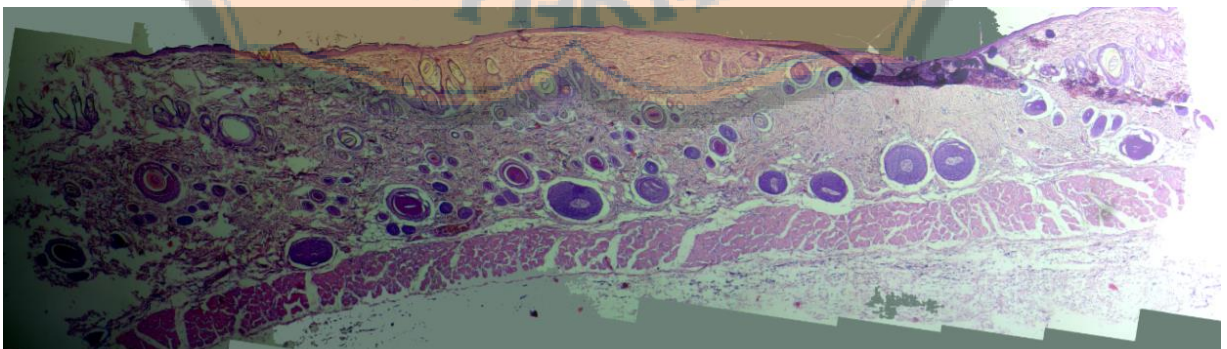
Tikus normal luka kontrol



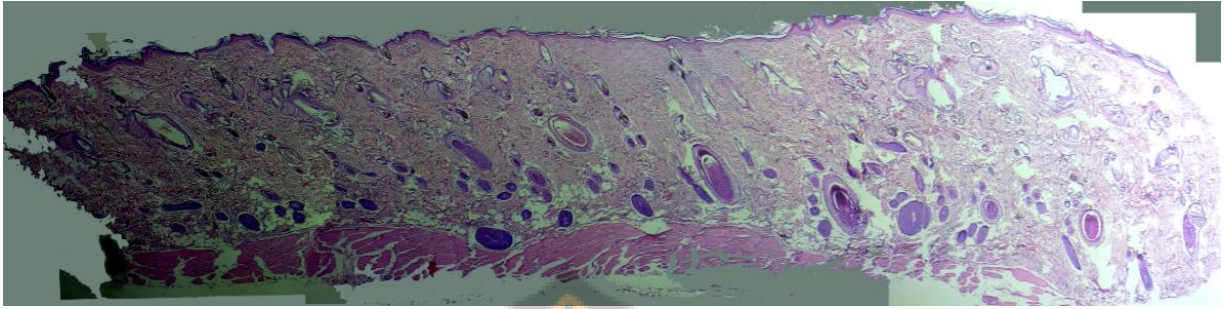
Tikus normal Gel



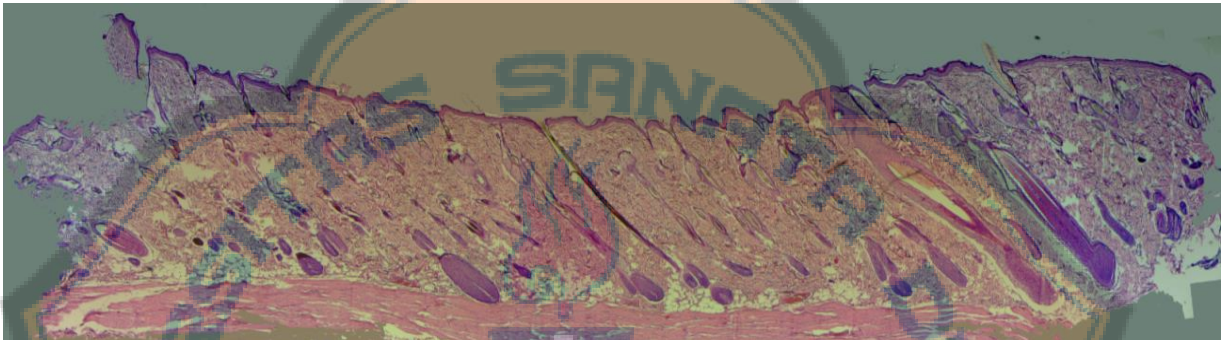
Tikus normal IBU 1



Tikus normal IBU 2



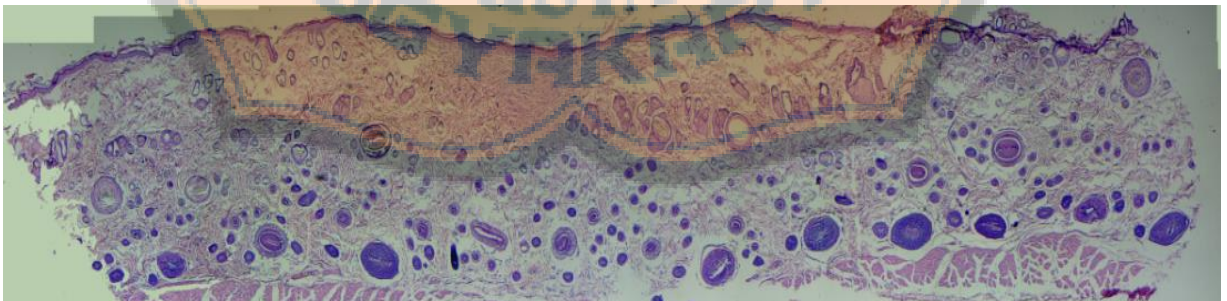
Tikus normal IBU 3



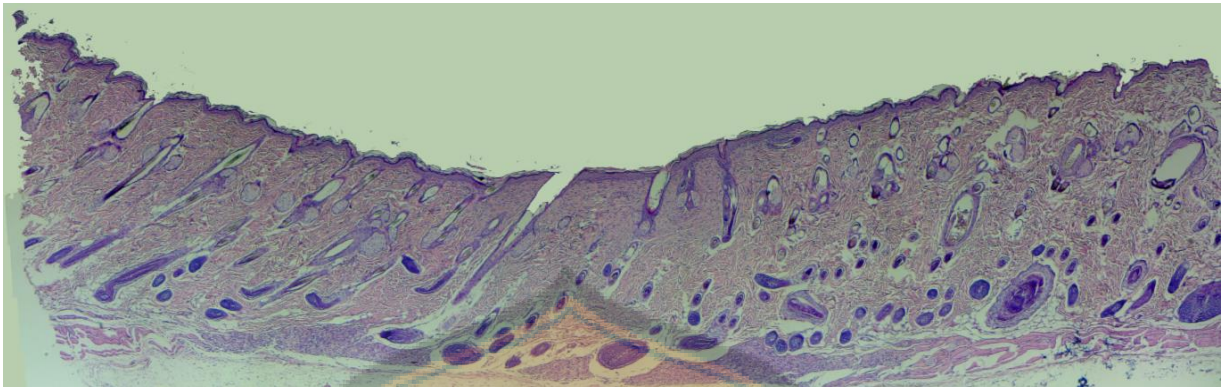
Tikus diabetes luka kontrol



Tikus diabetes Gel



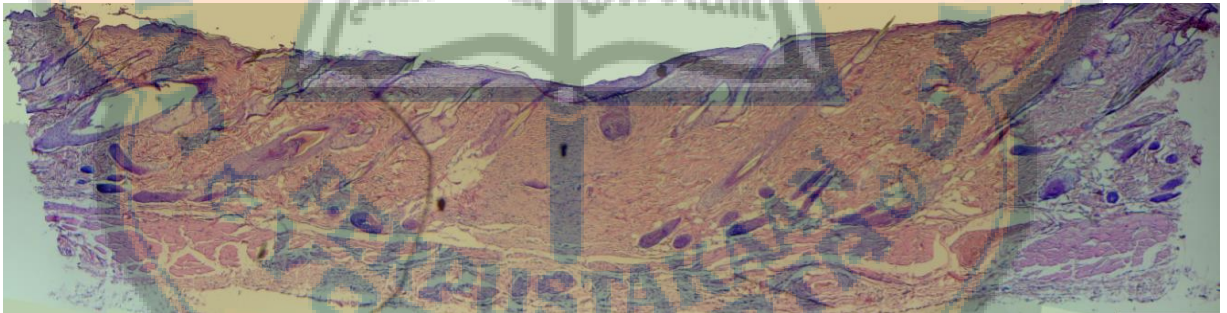
Tikus diabetes IBU 1



Tikus diabetes IBU 2



Tikus diabetes IBU 3



Lampiran 8. Dokumentasi Kegiatan Penelitian



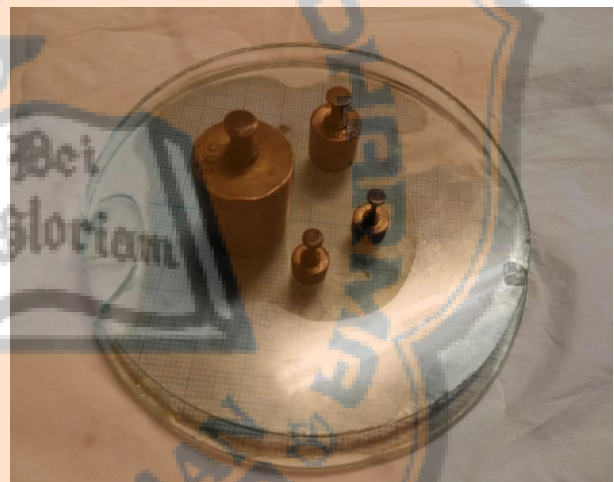
Proses Pembuatan Hidrogel



Sediaan Hidrogel Ibuprofen



Proses Uji Sterilitas



Uji Daya Sebar



Uji Homogenitas



Uji Viskositas



BIOGRAFI PENULIS



Penulis skripsi yang berjudul “Optimasi kadar Ibuprofen Dalam Sediaan Hidrogel sebagai *Diabetic Wound Healing* Pada Luka Tikus Diabetes” memiliki nama lengkap Ivana Tunggal. Dilahirkan di Tangerang pada tanggal 30 Oktober 1995 dari pasangan Bapak Fransiscus Richie Tunggal dan Ibu Tjen Fung Mie. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara. Penulis telah menyelesaikan pendidikan di TK Yunike Andreas pada tahun 1999 hingga 2001, lalu melanjutkan pendidikan di SD Yunike Andreas pada tahun 2001 hingga 2007. Penulis menempuh sekolah menengah di SMP Bonavita pada tahun 2007 hingga tahun 2010, kemudian melanjutkan ke tingkat menengah atas di SMA STRADA St. Thomas Aquino pada tahun 2010 hingga 2013. Penulis melanjutkan pendidikan tinggi di Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma pada tahun 2013 hingga 2016. Selama menjadi mahasiswa di Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, penulis cukup aktif dalam kegiatan kemahasiswaan dan kepanitiaan.

