

NASKAH PUBLIKASI

**PENULUSURAN AKTIVITAS ANTIBIOFILM DAN FORMULSI SPONS
PETROSIA SP SEBAGAI NANOSEL PENYEMBUH LUKA ULKUS
DIABETIKUM AKIBAT INFEKSI BIOFILM *STAPHYLOCOCCUS
AUREUS***

***TRACING ANTIBIOFILM ACTIVITY AND PETROSIA SP SPONGE
FORMULATION AS NANOSEL FOR HEALING DIABETIC ULCERS
DUE TO STAPHYLOCOCCUS AUREUS BIOFILM INFECTION***

ARIFIN NUR FAHDIANTO¹, HASYRUL HAMZAH²



DISUSUN OLEH :

ARIFIN NUR FAHDIANTO

1911102415065

PROGRAM STUDI S1 FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH KALIMANTAN TIMUR

2023

Naskah Publikasi

**Penelusuran Aktivitas Antibiofilm dan Formulasi Spons *Petrosia sp*
Sebagai Nanogel Penyembuh Luka Ulkus Diabetikum Akibat Infeksi
Biofilm *Staphylococcus aureus***

***Tracing Antibiofilm Activity and *Petrosia sp* Sponge Formulation as
Nanogel for Healing Diabetic Ulcers Due to *Staphylococcus aureus*
Biofilm Infection***

Arifin Nur Fahdianto¹, Hasyrul Hamzah²



Disusun Oleh :

Arifin Nur Fahdianto

1911102415065

PROGRAM STUDI S1 FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH KALIMANTAN TIMUR

2023

LEMBAR PERSETUJUAN
PENELUSURAN AKTIVITAS ANTIBIOFILM DAN FORMULASI
SPONS *PETROSIA SP.* SEBAGAI NANO GEL PENYEMBUH LUKA
ULKUS DIABETIKUM AKIBAT INFEKSI BIOFILM
STAPHYLOCOCCUS AUREUS

NASKAH PUBLIKASI

DISUSUN OLEH :
ARIFIN NUR FAHDianto
1911102415065

Disetujui untuk diujikan
Pada tanggal, 12 Juli 2023

Pembimbing



Dr. Hasyrul Hamzah.S.Farm..M.Sc

NIDN. 1113059301

Mengetahui,
Koordinator Mata Ajar Skripsi



Apt. Rizki Nur Azmi. M. Farm

NIDN. 1102069201

LEMBAR PENGESAHAN

PENELUSURAN AKTIVITAS ANTIBIOFILM DAN FORMULASI
SPONS *Petrosia sp.* SEBAGAI NANOSEL PENYEMBUH LUKA
ULKUS DIABETIKUM AKIBAT INFEKSI BIOFILM *Staphylococcus
aureus*

NASKAH PUBLIKASI

DISUSUN OLEH:
ARIFIN NUR FAHDIANTO
1911102415065

Disetujui untuk Diujikan
Pada tanggal, 12 Juli 2023

Penguji 1

Penguji 2

Apt. Ika Ayu Mentari, M. Farm
NIDN. 1121019201

Dr. Hasyrul Hamzah, S. Farm., M. Sc
NIDN. 1113059301

Mengetahui,
Ketua Program Studi S1 Farmasi

Apt. Ika Ayu Mentari, M. Farm
NIDN. 1121019201

Penelusuran Aktivitas Antibiofilm dan Formulasi Spons *Petrosia sp* sebagai Nano Gel Penyembuh Luka Ulkus Diabetikum Akibat Infeksi Biofilm *Staphylococcus aureus*

Arifin Nur Fahdianto¹, Hasyrul Hamzah²

Program Studi Farmasi, Fakultas Famas, Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur

E-mail : arifinurf@gmail.com

INTISARI

Latar Belakang : Ulkus diabetik pada kaki merupakan luka terbuka di kulit yang diakibatkan oleh makroangiopati, menyebabkan insufisiensi vaskular dan neuropati. Spons *Petrosia sp* adalah jenis spons yang mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti Taraxeron dan D-homoandrostan, yang memiliki aktivitas antibakteri, meskipun aktivitas antibiofilmnya belum dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas Spons *Petrosia sp* dalam menghambat biofilm pada *Staphylococcus aureus* dan mempercepat penyembuhan ulkus diabetik pada mencit sebagai hewan percobaan.

Metode : Ekstrak spons *petrosia sp* dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% selama 3 hari. Carbopol 940 digunakan sebagai agen pembentuk gel. Parameter yang diamati selama pengujian fisik nanogel ialah organoleptic, homogenitas, pH, daya lekat, dan ukuran partikel

Hasil Penelitian : Hasil pengujian menunjukkan bahwa zona hambat cenderung meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Ekstrak spons *Petrosia sp* dengan konsentrasi 1% terbukti efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* karena menunjukkan tingkat penghambatan $\geq 50\%$. Formulasi nano gel ekstrak spons *Petrosia sp* dengan konsentrasi 1% menunjukkan hasil yang baik dalam semua uji evaluasi sediaan nano gel yang memenuhi syarat, serta mampu menghambat bakteri pada luka ulkus diabetik dan mempercepat penyembuhan luka. Hal ini ditandai dengan tidak adanya penyebaran dan keluarnya cairan dari luka mencit dalam waktu ≤ 14 hari.

Kesimpulan : Formulasi Nano Gel ekstrak spons *petrosia sp* memiliki potensi sebagai pengobatan untuk penyembuhan luka diabetik.

Kata kunci : Spons *petrosia sp*, *Staphylococcus aureus*, Ulkus diabetikum, Nanogel

Tracing Antibiofilm Activity and Petrosia sp Sponge Formulation as Nanogel for Healing Diabetic Ulcers Due to Staphylococcus aureus Biofilm Infection

Arifin Nur Fahdianto¹, Hasyrul Hamzah²

Pharmacy Study Program, Faculty of Famas, Muhammadiyah University, East Kalimantan

E-mail : arifinurf@gmail.com

ABSTRACT

Background: Macroangiopathy, which results in vascular insufficiency and neuropathy, is the cause of diabetic foot ulcers, which are open wounds on the skin. Petrosia sp wipe is a kind of wipe that contains different bioactive mixtures, for example, Taraxeron and D-homoandrostan, which have antibacterial movement, despite the fact that antibiofilm action has not been accounted for. The purpose of this study is to determine whether the Petrosia sp. sponge can speed up the healing of diabetic ulcers in mice used as experimental animals and inhibit biofilm on Staphylococcus aureus.

Method : Petrosia sp. sponge extract was made by macerating it for three days in 96% ethanol. The gelling agent that was used was carbopol 940. During the physical testing of the nanogels, the organoleptic, homogeneity, pH, adhesion, and particle size were all observed.

Research Results: According to the test results, as the extract concentration increased, so did the inhibition zone. S. aureus growth was inhibited by Petrosia sp sponge extract at a concentration of 1%, indicating an inhibition level of less than 50%. In all evaluation tests of nano gel preparations that met the requirements, the nano gel formulation of Petrosia sp. sponge extract at a concentration of 1% was able to inhibit bacteria in diabetic ulcer wounds and accelerate wound healing. The absence of spread and fluid discharge from the mouse wound within 14 days exemplify this.

Conclusion : Nanogel formulation of petrosia sp sponge extract has potential as a treatment for diabetic wound healing.

Keywords : Petrosia sp sponge, Staphylococcus aureus, Diabetic ulcer, Nanogel

PENDAHULUAN

Indonesia ialah negara kepulauan yang mempunyai sumber daya alam hayati laut sangat besar. Ekosistem Terumbu karang termasuk SDA yang berada dilaut Indonesia. Ekosistem terumbu karang bisa hidup hingga 300 spesies karang, 200 spesies ikan serta ratusan spesies moluska, krustasea, spons, alga, lamun, dan biota laut lainnya (Sibarani dkk., 2020).

Spons mengandung alkaloid, terpenoid, glikosida, fenol, feniazin, poliketida, asam amino, dan lain-lain. Senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas biologis uat dan spesifik seperti antibakteri, antivirus, anti jamur, anti malaria, antiinflamasi dan *neuro suppressive*. Senyawa tersebut juga mempunyai sitotoksik terhadap sel lini ganas tertentu, menjadikannya selaku potensi target obat guna mengobatinya penyaki multi-faktorial salah satunya kanker (Restu, 2019).

Adanya biofilm pada dasar luka bisa menghambatnya aktivitas fagositosis neutrophil polimorfonuklear. Kehadiran biofilm bakteri dianggapnya penghalang bagi perkembangan alami luka menuju penyembuhan (Ricci, E., & Clinic, S. L., 2016). Biofilm berlimpah diluka kronis seperti yang ditunjukkan oleh James et al didalam Bellingeri et al., (2016) yang melaporkan 60% dari luka kronis yang terkandung biofilm dibandingkan dengan 6% luka akut. Biofilm bertindak sebagai penghalang mekanis mengurangi kontak antimikroba dengan bakteri dan efektivitas mereka, dan kolonisasi sederhana kekolonisasi kritis dan infeksi (Nurlany dkk., 2021).

Asam kortikat, antijamur yang diproduksi oleh spons *Petrosia corticata*, milik genus *Petrosia*. Menurut data dari Soest dan Braekman (1999), terdapat juga beberapa senyawa bioaktif lain dari famili *Petrosidae*, seperti acetylene polyhydroxylate, cyclic 3-alkylpiperidine, dan cyclopropenasterol. Selain itu, sejumlah alkaloid manzamin-A, yang bersifat sitotoksik, telah ditemukan dan dideskripsikan dari genus *Petrosia* (El Sayed et al., 2001).

Spons bisa berbentuk tabung berdinding tipis atau bisa berukuran besar dan asimetris. Banyak spons juga terdiri atas massa jaringan tak dikenal yang melekat dan mengeras di atas batu, cangkang, tunggul, atau tumbuh-tumbuhan. Koloni spons lainnya memiliki struktur yang lebih simetris dan diamankan ke dasar air oleh jaringan spikula. Tubuh spons dapat mengambil berbagai bentuk. Beberapa jenis memiliki cabang yang menjulur seperti pohon, sementara yang lain memiliki bentuk seperti cangkir atau kubah, seperti sarung tinju. *Petrosia* sp. spons bisa sekecil pin atau berdiameter 0,9-meter dan tebal 30,5 sentimeter. Karena spikula menonjol keluar dari tubuhnya, beberapa jenis bunga karang tampak memiliki bulu-bulu yang bergetar (Romimohtarto & Juwana 2001).

Spons mengandung alkaloid, terpenoid, glikosida, fenol, feniazin, poliketida, asam lemak, peptide, analog asam amino, nukleosida, porfirin, peroksida alifatik siklik, dan sterol (Andavan & Lemmens- Gruber, 2010; Montaser & Luesch, 2011; Gordaliza, 2010). Menurut studi oleh Debitsky et al. (2005), Frota dkk. (2012), Mehubub dkk. (2014), dan Gomes Filho et al. (2014), bahan kimia ini menunjukkan aktivitas biologis secara spesifik misalnya antibakteri, antivirus, antiinflamasi, dan efek neurosupresif. Zat ini merupakan target terapi yang mungkin untuk pengobatan gangguan multifaktorial, ini juga mempunyai efek sitotoksik pada beberapa lini sel ganas tertentu termasuk kanker (Munro et al., 1999; Blunt et al., 2015).

Pasien diabetes melitus (DM) dapat mengalaminya ulkus kaki diabetik, yaitu area kerusakan kulit sebagian atau total yang dapat mempengaruhi jaringan di bawah kulit, tendon, otot, tulang, dan persendian. Kadar gula darah yang tinggi menjadi penyebab kondisi ini. Amputasi diperlukan apabila ulkus kaki terinfeksi dan berkembang menjadi gangren yang mana jaringan akan memburuk (Darmono, 2007).

Melalui sejumlah alasan, biofilm pada luka dihipotesiskan membatasi efisiensi penggunaan antibiotik dan menyebabkan resistensi antibiotik. Ada berbagai bentuk bakteri patogen yang tahan terhadap lingkungan dan bahan kimia, termasuk antibiotik. Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi profil bakteri pada ulkus diabetik dan produksi biofilm pada ulkus diabetik. Penyembuhan memperhitungkan antibiotik yang membuat sel-sel bakteri dalam biofilm sehingga tidak bertahan lama di lingkungan luka, hal tersebut berkaitan dengan keterlambatan fisiologis menyembuhkan luka

yang mana biofilm bisa tahan terhadap beragam antibiotik serta bisa bertahan tubuh pasien. mekanisme pertahanan (Muhartono, 2017).

Nanogel adalah partikel hydrogel ikatan silang berbasis polimer, manfaat nanogel meliputi ukuran partikelnya yang kecil, peningkatan stabilitas, tidak lengket, efek mendinginkan pada kulit, dan daya tarik estetika. Luka kronis yang membutuhkan waktu sangat lama untuk sembuh merupakan jenis kerusakan jaringan pada kulit yang disebabkan oleh infeksi, trauma berulang, dan faktor sistemik seperti diabetes melitus. Luka akan memunculkan mekanisme regenerasi sel yang mencakup tiga fase utama: inflamasi, proliferasi, beserta pembentukannya jaringan, tetapi adanya luka kronis bisa menghambatnya penyembuhan luka (*wound healing*).

Karena zat alami jarang dioptimalkan ke dalam komposisi farmasi, obat sintetik terus menjadi pilihan pilihan untuk merawat luka saat ini. Selain itu, bioaktif menantang untuk menembus jaringan kulit karena karakteristik fisikokimia dari komponen alami. Untuk memaksimalkan potensi bahan alam dalam meningkatkan efektivitas pengobatan luka kronis, teknologi formulasi dosis perlu dikembangkan. Penciptaan sediaan nanogel mungkin menawarkan jalan keluarnya. Formulasi nanogel bisa membantunya peningkatan penetrasi bioaktif, serta bentuk gel berfungsi selaku pembalut luka yang bisa melindungi dari kontaminasi (Adi, 2020).

BAHAN DAN METODE

Penelitian yang dilaksanakan ialah penelitian eksperimental dengan mencakup penyiapan, identifikasi sampel, pembuatan ekstrak, pembuatan sediaan nanogel. Selanjutnya dilakukan Uji aktivitas penghambatan biofilm *S. aureus* mempergunakan teknik *tissue culture plate/microtiter plate biofilm assay*.

Sampel dipakai dalam penelitian adalah *spons petrosia*. Determinasi spons petrosia dilakukan dengan cara mencocokkan morfologi yang ada pada spons terhadap data kepustakaan.

Dilaksanakan secara maserasi bertingkat menggunakan pelarut etanol 96% selama 3x24 jam dengan perbandingan sampel-pelarut sebesar 1:2. Filtrat dan residu dipisahkan menggunakan corong Buchner atau kertas saring. Ekstark cair yang dihasilkan dipekatkan hingga diperoleh ekstrak kental menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C serta tangas air.

Tahapan awal dalam menguji dipakai teknik cakram kertas yakni kertas cakram yang diameternya 6 mm dimasukkan kedalam larutan spons uji selanjutnya diletakkannya diatas permukaan media MHA kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C (Ortez, 2005). Setelah terlihat zona bening dilakukannya pengujian lanjut memakai teknik sumur. Larutan spons uji dievaporasi hingga kering selanjutnya dilarutkannya memakai etanol 4 ml, selanjutnya dimasukkannya kedalam 3 sumur dengan diameter 6 mm. Sumur ke empat diisi etanol selaku kontrol positif serta sumur kelima diisi memakai larutan kloramfenikol selaku kontrol positif. Berikutnya dilakukan inkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C.

Dalam menilai kepengaruh isolat uji pada pembentukannya biofilm *P. aeruginosa*, dipakai *microtiter plate polystyrene flat bottom 96-well* (Pierce dkk., 2010). Sebanyak 100 µL suspensi *P. aeruginosa* (107 CFU/mL) dimasukkan pada tiap *wells microtiter plate* selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu ± 37°C selama 90 menit. Selanjutnya *plate* dicuci memakai 150 µL aquades steril tiga kali guna menghilangkannya sel-sel yang tidak melekat. Sebanyak 100 µL media yang memiliki kandungan isolat murni saponin dengan seri konsentrasi (1 %, 0,5 %, 0,25 %, 0,125% b/v), dimasukkan kedalam sumuran yang sudah dibersihkan. Selaku kontrol media dipakai media tanpa pertumbuhan bakteri, serta suspensi bakteri menjadi kontrol negatif. Selaku kontrol positif dipergunakan suspensi bakteri yang ditambahkan antibiotik gentamisin kadar 1 % b/v. *Plate* selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam supaya terbentuk biofilm fase pertengahan dan selama 48 jam agar membentuk biofilm fase pematangan.

Berikutnya *plate* dibersihkan memakai air suling 3x, dan dikeringkan pada suhu ruang selama 5 menit supaya tidak ada sisa air. 125 µL larutan *kristal violet 1 %* dimasukkan kedalam tiap *wells* supaya memberi warna biofilm yang sudah dibentuk, baik

sel mati atau sel hidup selaku komponen yang menyusun biofilm, selanjutnya menginkubasi pada suhu ruang. Selanjutnya *microplate* dibersihkan menggunakan air mengalir 3x supaya menghilangkan sisa kristal violet dan dimasukkan 200 μ L etanol 96% pada tiap sumuran supaya mencairkan biofilm yang ada. Pembacaan *Optical Density* (OD) dilaksanakan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm.

Sebanyak 150 mg ekstrak *Spons petrosia* dilarutkannya pada 9 mL metanol memakai magnetic stirrer yang kecepatannya 800 rpm pada suhu 50°C. Fase minyak dibuat dengan menambahkannya 6 mL isopropyl miristat (IPM) pada larutan ekstrak hingga homogen. Faseminyak dicampurkan dengan 27,5 mL tween 80 dan 15,5 mL metanol diaduk dengan kecepatan magnetic stirrer 1000 rpm pada suhu 50°C selama 3 menit. Larutan tersebut dikombinasikan dengan 30 mL aquadestilata sedikit demi sedikit dan diaduk sampai homogen. Nanogel dibiarkan 24 jam sampai jernih. Massa gel terbentuk dari taburan setiap formula 0,5; 1; 1,5; gram karbopol pada mortir hangat, digerus kemudian dimasukkan 9 mL air dan metilparaben yang terlarut pada 3mL metanol.

Pendistribusian ukuran partikel dan rata-rata droplet nanogel diukur menggunakan teknik DLS serta alat yang dipergunakan ialah Particle Size Analyzer (PSA) Horiba Scientific-100 SZ Sebanyak 3 mL nanogel dimasukkan pada kuvet selanjutnya pada PSA supaya dilakukan pengukuran pada droplet. Pengukuran dilaksanakan 3x pada tiapformula (Lysa Oktaviani 2020 t.t.).

Pengujian organoleptik dilaksana pengamatan langsung bentuk, warna, serta baunya dari gel yang jernih dan setengah cair. Pemeriksaan dilakukan secara visual sebelum dan setelah perlakuan uji stabilitas melalui pengambilan sebanyak 0,25 gr pada diuji serta diketahui sifatnya (Ramadhan, 2016).

Terdapat 0,5 gr sediaan dilarutkan menggunakan 5 ml aquades, selanjutnya pH stik dicelup selama 1 menit. Warna yang berubah menunjukkannya nilai pH dari Nanogel (Lysa Oktaviani.,2020).

Sediaan nanogel bagian atas, tengah, dan bawah diambil 0,25-gram selanjutnya diletakkannya pada plat kaca selanjutnya digosokkan serta diraba untuk diketahui serta dirasakan rata ataupun tidak sediaan (Naibaho dkk, 2013).

Sebanyak 100 mL sediaan nano emulgel diukur memakai viskometer Ostwald. Angka yang didapati akan terlihat pada layar, selanjutnya dibaca pada skala pada viscometer tersebut (Lysa Oktaviani.,2020).

Tiga ekor mencit Jantan dengan berat sekitar 24–26-gram diaklimatisasi selama 30 hari sebelum penelitian dimulai, diberikan makanan serta minuman serta diberi kepuasan sebelum diberikan perlakuan. Selama diperlukakan hewan tersebut sama sekali tidak diberikan makanan maupun minuman.

Mencit yang sudah ditimbang diberi kepuasan selama 16 jam. Kemudian untuk mengukur kadar glukosa darah pada hari pertama dilaksanakan pengambilannya darah awal sebelum diberikan perlakuan. Selanjutnya dilaksanakan pengukuran darah awal (T_0). Pada hari itu juga diberi larutan aloksan monohidrat 3mg/20 g BB mencit secara i.p. Sesudah 3 hari proses induksi menggunakan larutan aloksan, diambil darahnya (T_1).

Sebelum pengambilan darah, ekor mencit terlebih dahulu dibersihkan menggunakan alcohol 70%, kemudian diambil darah melewati ujung ekor mencit ditoreh dengan memakai pisau bedah kecil sehingga membentuknya sayatan serta mengukur kandungan glukosa menggunakan glucometer easy touch. Darah mancit diujung ekor diteteskan pada strip glukosa yang sudah ditambahkan pada glucometer. Selanjutnya tunggu beberapa detik hingga bisa diketahui kadar gula darah. Angka yang diperlihatkan adalah nilai konsentrasi kadar gula darah dalam satuan mg/dL.

Rambut mencit dibersihkan hingga bersih lalu dicukur bagian paha setelah itu dibersihkan menggunakan alcohol 70%, selanjutnya disayat 0,5 cm menggunakan pisau. Luka yang telah ada dilekatkan bakteri *S. aureus* dengan pengamatan 1 x 24 jam fase pertengahan pembentukan biofil pada bakteri dan diamati Kembali pada 1x 48 jam pada fase pematangan bakteri. Dilakukan pengolesan sediaan uji (formulasi nanogel ekstrak spons *petrosia sp.*). Pada hari berikutnya diamati dan didokumentasikan kondisi luka ulkus. Dilakukan 2x/ hari hingga luka sembuh dan mengering dengan indicator tidak adanya eritema disertai keluarnya cairan pada luka dan penyebaran luka oleh bakteri yang telah dihambat oleh bahan uji.

HASIL DAN DISKUSI

Uji Antibiofilm *Staphylococcus aureus*

Hasil Uji antibiofilm *S. aureus terhadap ekstrak etanol 96% Spons Petrosia sp* dapat dilihat pada Gambar 1 fase pertengahan (24 jam) dan Gambar 2 Fase pematangan (48 jam)

Formulasi Nanogel Ekstrak Etanol 96% Spons *Petrosia sp.*

Nanoemulgel dibuat dengan memakai teknik inkorporasi gel serta nanoemulsi. Pembuatan nanoemulgel atas tiga proses, yakni membuat nanoemulsi, basis gel, beserta inkorporasi nanoemulsi pada basis gel.

Uji Organoleptis

Perolehan pengamatan uji daya lekat sediaan nanogel ekstrak etanol 96% *spons petrosia sp.* Pada 0,5 gr didapatkan selama 7 detik

Uji Ph dan Homogenitas

Perolehan uji daya sebar formulasi nanogel ekstrak etanol 96% *spons petrosia sp.* Bisa diketahui pada table

Uji Daya Lekat

Perolehan pengamatan uji daya lekat sediaan nanogel ekstrak etanol 96% *spons petrosia sp.* Pada 0,5 gr didapatkan selama 7 detik

Uji Daya Sebar

Perolehan uji daya sebar formulasi nanogel ekstrak etanol 96% *spons petrosia sp*

Uji Viskositas

Pada uji viskositas dilakukan dengan menggunakan jarum spindel nomor 6 dan didapatkan hasil 312,3 Poise.

Uji Pra Klinik

Pada uji pra-klinik dilakukan pengamatan pengaruh pemberian sediaan nanogel ekstrak etanol 96% *spons petrosia sp.* Terhadap foot ulkus diabetikum pada mencit Jantan dengan menggunakan control positif salep kloramfenikol dan control negative basis gel.

Uji Particle Size Analyzer (PSA) :

Sebanyak 3 mL nanogel dimasukkan pada kuvet selanjutnya pada PSA supaya dilakukan pengukuran pada droplet. Pengukuran dilaksanakan 3x pada tiap formula dan didapatkan hasil pengukuran partikel yaitu 15.14 nm

PEMBAHASAN

Uji Antibiofilm *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan hasil uji yang didapatkan bahwa semua konsentrasi yang diuji yaitu 1%, 0,050%, 0,25%, dan 0,125% serta control positif yang digunakan berupa kloramfenikol 1% menunjukkan adanya penghambatan terhadap pertumbuhan biofilm *S. aureus*. Pada tahap uji antibiofilm sebanyak 100 nl suspensi bakteri *S.aureus* ditambahkan pada tiap lubang microtiter plate flat botton polystyrene 96 wells yang diperlukan untuk menilai pengaruh isolate uji terhadap pembentukan biofilm dan media yang digunakan yaitu Nutrient broth (NB) Kemudian bakteri *S.aureus* diinkubasi terlebih dahulu selama 90 menit pada suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ untuk fase pelekatan biofilm. Setelah diinkubasi, plate dicuci menggunakan aquades steril sebanyak 150 μL dengan 3 kali pengulangan supaya menghapuskan sel yang tidak melekat. Sebanyak 100 μL sampel uji dengan konsentrasi 1%, 0,50%, 0,25%, dan 0,125% dimasukkan ke dalam lubang wells plate yang dibutuhkan serta setelah dicuci. Suspensi bakteri *S. aureus* selaku control pertumbuhan sedangkan control obat yang digunakan suspensi bakteri *S. aureus* yang diberi obat kloramfenikol. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada plate dengan suhu 37°C selama 48 jam pada fase pematangan dan 24 jam untuk fase pertengahan.

Pada saat pengujian antibiofilm kita akan menentukan nilai MBIC_{50} dari ekstrak etanol 96% *spons Petrosia sp* terhadap pembentukan biofilm *S. aureus* dengan pembacaan nilai Optical Density (OD) dilaksanakan pada Panjang gelombang 620 nm. Data yang didapatkan dari analisa penghambatannya biofilm berupa nilai OD dari setiap konsentrasi senyawa uji ataupun control control tanpa senyawa uji yang diperolehnya dari pembacaan dengan *microplate reader*.

Hasil uji penghambatan biofilm bakteri *S. aureus* dari ekstrak spons *petrosia sp* menunjukkan adanya penurunan pertumbuhan biofilm seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak spons *Petrosia sp*. Hal tersebut dapat dilihat dari adanya penurunan nilai OD seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak spons *petrosia sp* yang diberikan. Nilai OD tertinggi yang didapatkan berada pada konsentrasi 1% yaitu sebesar 0,1502 Pada fase pertengahan dan 0,1412 Pada fase pematangan.

Didapatkan hasil aktivitas penghambatan tertinggi pada fase pertengahan (24 jam) pada konsentrasi 1% dengan presentase daya hambat sebesar 83,53% Dan aktivitas *penghambatan* terendah pada fase pematangan (48 jam) terdapat pada konsentrasi 0,125% dengan presentase daya hambat sebesar 55%. Dari hasil penelitian ini MBIC₅₀ terdapat pada konsentrasi 0,125% karena kadar sampel yang bisa menghambat minimal 50% pembentukan biofilm yang dianggap MBIC₅₀. Jika presentase aktivitas antibiofilm lebih dari 50% maka termasuk kedalam aktivitas antibiofilm yang tinggi.

Formulasi Nanogel Ekstrak Etanol 96% Spons *Petrosia sp*

Pembuatan sediaan nanogel dengan cara inkorporasi nanoemulsi pada basis gel. Nanoemulsi yang dibuat mempergunakan teknik emulsifikasi energi rendah karena emulsi otomatis terbentuk karena adanya fase minyak serta air mempergunakan *magnetic stirrer* dengan suhu 45°C dan 250 rpm selama 2 jam. Viskositas nanoemulsi yang rendah bisa membatasi penetrasi zat aktif melewati kulit. Dengan demikian inkorporasi nano emulsi dalam matriks hydrogel yang dinamakan system nanoemulgel dibutuhkan dalam mengatasi perihal tersebut.

Uji Daya Lekat

Perolehan pada observasi uji daya lekat sediaan nanogel ekstrak spons *petrosia sp* didapatkan hasil selama 7 detik. Uji daya lekat ini dilaksanakan supaya melihat waktu yang diperlukan oleh gel supaya melekat pada kulit. Syarat uji daya lekat yang tidak baik kurang dari 4 detik

Uji Daya Sebar

Hasil pengamatan uji daya sebar dengan berat 0 gr, 50 gr, 100 gr, dan 150 gr dapat dilihat pada table 4.6. Parameter daya sebar yang baik adalah 5-7 cm. Uji daya sebar dilaksanakan guna melihatnya daya penyebaran nanogel pada kulit, dimana suatu basis gel yang baik mempunyai daya sebar yang baik dalam menjamin pemberian obat yang memuaskan.

Uji Organoleptis

Hasil uji organoleptis formulasi nanogel ekstrak etanol 96% spons *Petrosia sp* menunjukkan formulasi yang dibuat stabil homogen (tidak memisah) pada penyimpanan dengan suhu ruangan selama 7 hari pengamatan.

Uji Ph dan Homogenitas

Pengukuran pH dilaksanakan selaku parameter sifat fisikokimia dari suatu zat yang penting pada suatu sediaan nanogel karena berkaitan dengan efektivitas zat aktif. Hasil uji pH formulasi sediaan nanogel ekstrak etanol 96% spons *Petrosia sp* terdapat pada pH 5 dengan menggunakan indikator pH universal. Uji pH tersebut dilakukan untuk mengetahui sifat dari formulasi sediaan dalam mengiritasi kulit. Sediaan nanogel yang digunakan untuk mengaplikasikan pada kulit memiliki nilai pH antara 4,5 sampai 6,5 (Naibaho dkk, 2013).

Uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui homogenitas pada sediaan nanogel yang dibuat tercampur merata antara basis gel dan nanoemulsi. Hasil uji homogenitas formulasi sediaan ekstrak etanol 96% spons *Petrosia sp* menunjukkan hasil yang homogen atau tidak memisah yang dioleskan pada kaca objek.

Uji Viskositas

Pengujian viskositas formulasi sediaan nanogel ekstrak etanol 96% spons *petrosia sp* menggunakan jarum spindel no 6 dengan hasil 312,3 Poise pada alat viskotester. Hasil tersebut menunjukkan bahwa viskositas pada nanogel ekstrak spons memiliki viskositas yang baik dan memenuhi persyaratan. Pengujian viskositas ini bertujuan untuk mengetahui daya alir atau kekentalan pada suatu zat cair atau semi padat

Uji Pra Klinik

Pada uji pra klinik induksi diabetes pada mencit menggunakan metode induksi aloksan dengan dosis tinggi yakni 100 mg/kg BB yang dikonversikan dengan berat badan mencit (mg) menjadi 9,08 mg/0,5cc secara intraperitoneal. Aloksan dipilih sebagai

diabetogen pada penelitian ini karena aloksan pada tubuh mengoksidasi reduksi menghasilkannya radikal bebas dan radikal aloksan yg menyebabkan sel beta pancreas mengalami kerusakan. Sehingga menyebabkan insulin dependent diabetes melitus atau alloxan diabetes pada hewan percobaan. Proses aloksan menginduksi respon glukosa secara selektif ditunjukkan dalam beberapa fase yaitu perubahan terbalik konsentrasi insulin, perubahan sel beta secara structural dilanjutkan dengan nekrosinya sel beta pancreas. Tahapan awal yang muncul pada hewan uji mencit dimenit-menit awal paska injeksi aloksan adalah hipoglikemik sementara yang berlangsung maksimal 30 menit. Hal ini terjadi akibat adanya respon insulin sementara karena penghambatan fosforilasi glukosa melalui penghambatan glukokinase (Rohilla & Ali, 2012).

Fase kedua ialah saat terjadinya kenaikan kadar glukosa darah setelah 1 jam penginduksian aloksan. Selain itu, Konsentrasi insulin plasma juga menurun pada saat yang sama. Fase ini merupakan fase hiperglikemi pertama setelah sel beta kontak dengan aloksan yang berlangsung selama 24 jam. Proses ini terjadi akibat adanya toksisitas aloksan (Rohilla & Ali,2012). Fase ketiga merupakan fase hiperglikemik yang terjadi pada 4-8 jam kemudian dan bisa berlangsung beberapa jam. Proses ini terjadi akibat adanya aloksan yang menghancurkan organela sel seperti badan golgi mikrodria sehingga membrane sel beta pancreas ruptured. Fase keempat ialah fase hiperglikemik permanen dimana setelah 24-48 jam kemudian (Rohilla & Ali,2012).

Pemilihan dosis tinggi pada pemberian aloksan diharapkan agar sel-sel beta Langerhans masih bisa berproduksi. Selanjutnya aloksan dilarutkan dengan NaCl 0,9% lalu diinduksikan kemencit melalui intrapetoneal yang telah dipuasakan. Pengecekan kadar gula darah mencit 5 hari setelah dilakukan penginduksian aloksan pada hewan uji mencit, yang mana kadar glukosa darah meningkat ≥ 140 mg/dL.

Uji penghambatan biofilm ulkus diabetikum terhadap formulasi sediaan nanogel ekstrak spons *petrosia sp* menggunakan hewan uji berupa mencit yang telah diinduksikan aloksan dan telah dinyatakan hiperglikemia. Bulu mencit dicukur pada bagian paha untuk diberi luka sayat sepanjang 0,5 cm. Setelah diberikan luka sayat kemudian ditempelkan bakteri *S. aureus* dengan pengamatan 1x24 jam fase pertengahan pembentukan biofilm pada bakteri dan diamati Kembali pada 1 x 48 jam pada fase pematangan bakteri. Setelah itu dilakukan pengolesan sediaan uji (nanogel ekstrak spons *petrosia sp*). Tahapan hasil pengamatan luka pada hewan uji mencit menunjukkan adanya eritema pada hari pertama awal sayatan hingga pelekatan bakteri, hasil pengamatan 1 x 24 jam setelah pelekatan bakteri pada luka masih menunjukkan adanya eritema, pada pengamatan 1 x 48 jam menunjukkan fase pematangan bakteri yang menimbulkan penyebaran disertai keluarnya cairan pada luka. Pada fase pematangan ini, nanogel ekstrak spons *petrosia sp* ini dioleskan dengan melihat pengaruh penghambatan bakteri. Dilakukan 2 x sehari hingga luka menutup dan kering dengan indikator tidak adanya eritema disertai keluarnya cairan pada luka dan penyebaran luka oleh bakteri.

Infeksi pada ulkus diabetikum terjadi karena ulserasi. Kaki ialah lokasi yang rumit karena mempunyai banyak kompartemen yang saling berhubungan dan mempunyai banyaknya jaringan lunak yang mudah terkena infeksi. Infeksi bisa menyebar secara Inter-kompartemen (Nair et al.,20022). Dari peroleh penelitian ini, pemberian sediaan naogel ekstrak spons *petrosia sp* dengan yang diperlukan dengan mengoles 2 x sehari dibagian luka pada jam 7 pagi dan jam 5 sore menggunakan salep kloramfenikol sebagai kontrol positif. Perolehan penelitian ini menunjukkan bahwa dengan sediaan nanogel ekstrak spons *petrosia sp* mampu menyembuhkan luka ulkus diabetikum pada mencit. Hal ini dikarenakan spons *petrosia sp* memiliki kandungan senyawa bioaktif sebanyak 50% sebagai antibakteri.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang sudah dilaksanakan, maka kesimpulannya ialah:

- 1 Ekstrak etanol spons *petrosia sp* dengan konsentrasi 1% baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dikarenakan untuk presentase penghambatan $\geq 50\%$
- 2 Formulasi sediaan nanogel ekstrak spons *petrosia sp* konsentrasi 1% dapat dikatakan baik dalam seluruh hasil uji evaluasi sediaan nanogel yang telah memnuhi syarat.

- 3 Formulasi sediaan nanogel ekstrak spons *petrosia sp* dengan konsentrasi 1% dapat menghambat bakteri pada luka ulkus diabetikum serta menyembuhkan luka dengan indicator tidak adanya penyebaran disertai keluarnya cairan pada luka mencit dalam waktu penyembuhan kurang dari 14 hari.

REFERENSI

- Bellingeri, A., Falciani, F., Trapedini, P., Moscatelli, A., Russo, A., Tino, G., Chiari, P., & Peghetti, A. (2016). Effect of a wound cleansing solution on wound bed preparation and inflammation in chronic wounds: A single-blind RCT. *Journal of Wound Care*, 25(3), 160–168. <https://doi.org/10.12968/jowc.2016.25.3.160>
- Handayani, D., & Yunance, L. (2011). Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Dan Fraksidari Spon Laut *Petrosia Sp*. Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. 2, 8.
- Indalifiany, A., Malaka, M. H., Fristiohady, A., & Andriani, R. (2021). NANOEMULGEL CONTAINING *Petrosia Sp*. 11.
- Lysa Oktaviani 2020. t.t. "Aktivitas Antibiofilm Polimikroba Pada Kateter Dari Tanaman Bajakah " 14.
- Murniasih, T. (2003). Metabolit sekunder dari spons sebagai bahan obat-obatan. *Oseana*, 28(3), 27-33.
- Nurlany, A., Damanik, C., & Hamka, H. (2021). Studi Kasus Efektivitas Penggunaan Cairan Pembersih Luka Polyhexamethylene Biguanide Dengan Nano Silvosept Spray Dalam Mengurangi Biofilm Pada Ulkus Kaki Diabetik. *Jurnal Keperawatan Wiyata*, 2(1), 51. <https://doi.org/10.35728/jkw.v2i1.492>
- Nurlany, A., Damanik, C., & Hamka, H. (2021). Studi Kasus Efektivitas Penggunaan Cairan Pembersih Luka Polyhexamethylene Biguanide Dengan Nano Silvosept Spray Dalam Mengurangi Biofilm Pada Ulkus Kaki Diabetik. *Jurnal Keperawatan Wiyata*, 2(1), 51-60.
- Putri, S., & Hadisaputri, Y. E. (t.t.). Artikel Ulasan: Aktivitas Antikanker Sponslaut Kelas Demospongiae Fitrah. 11.
- Santoso, P., Rahayu, D., & Irawan, H. (2022). E-ISSN 2549-8118; p-ISSN 2085-1049 <http://journal.stikeskendal.ac.id/index.php/Keperawatan>. 14(1), 8.
- Sibarani, S. I. M., Yudistira, A., & Mpila, D. A. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Spons *Stylissa Sp*. Dengan Menggunakan Metode Dpph (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Pharmacon*, 9(3), 419. <https://doi.org/10.35799/pha.9.2020.30027>
- Tatuhe, E. H. S., Yudistira, A., & Datu, O. (2022). Uji AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAN FRAKSI DARI SPONS (*Liosina paradoxa*) YANG DIPEROLEH DARI PULAU MANADO TUA. *PHARMACON*, 11(3), 1536-1540.
- Wewengkang, D. S., Sumilat, D. A., & Rotinsulu, H. (2014). Karakterisasi dan bioaktif antibakteri senyawa spons *Haliclona sp*. dari teluk Manado. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*, 1(1), 71-85.
- Wewengkang, D. S., Sumilat, D. A., & Van Soest, 1989. (2014). Karakterisasi Dan Bioaktif Antibakteri Senyawa. 1, 15.
- Wijonarko, B., Anies, A., & Mardiono, M. (2016). Efektivitas Topikal Salep Ekstrak Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) terhadap Proses Penyembuhan

NP 1 : Arifin Nur Fahdianto

by Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur

Submission date: 16-Jul-2024 08:14AM (UTC+0800)

Submission ID: 2186991000

File name: ARIFIN_NUR_FAHDIANTO_1911102415065_JURNAL.docx (3.25M)

Word count: 3843

Character count: 24097

NP 1 : Arifin Nur Fahdianto

ORIGINALITY REPORT

27%	26%	10%	3%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	dspace.umkt.ac.id Internet Source	8%
2	journal.ugm.ac.id Internet Source	4%
3	eprints.ums.ac.id Internet Source	4%
4	123dok.com Internet Source	2%
5	www.vliz.be Internet Source	2%
6	jurnal.itkeswhs.ac.id Internet Source	1%
7	adoc.pub Internet Source	1%
8	Asniar Pascayantri, Mini Bektu Ningsih, Baru Sadarun, Muhammad Hajrul Malaka, Adryan Fristiohady, Fadhliyah Malik, Sahidin I. "IN VITRO CYTOTOXICITY ASSAY OF Petrosia sp. ETHANOL EXTRACT BY USING MTT METHOD	<1%