

**ANALISIS KLINIS DAN HISTOLOGIS KRIM EKSTRAK  
*CHLORELLA VULGARIS* TERHADAP AKTIVITAS SEL  
FIBROBLAS PADA PROSES PENYEMBUHAN LUKA:  
EKSPERIMEN PADA HEWAN COBA**

**CLINICAL AND HISTOLOGICAL ANALYSIS OF  
*CHLORELLA VULGARIS* EXTRACT CREAM ON FIBROBLAST  
CELL ACTIVITY IN WOUND HEALING PROCESS:  
EXPERIMENTS ON EXPERIMENTAL ANIMALS**

**TESIS**



**OLEH:**

**S U T I Y O  
NIM. J015181004**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS  
PROGRAM STUDI PROSTODONSIA  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
2020**

**ANALISIS KLINIS DAN HISTOLOGIS KRIM EKSTRAK  
*CHLORELLA VULGARIS* TERHADAP AKTIVITAS SEL  
FIBROBLAS PADA PROSES PENYEMBUHAN LUKA:  
EKSPERIMEN PADA HEWAN COBA**

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk  
Memperoleh gelar Profesi Spesialis – 1 dalam bidang ilmu Prostodonsia  
Pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

OLEH

**SUTIYO**

**NIM. J015181004**

Pembimbing:

1. Prof. Dr. drg. Edy Machmud, Sp.Pro(K)
2. drg. Eri Hendra Jubhari, M.Kes, Sp.Pro(K)

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS

PROGRAM STUDI PROSTODONSIA

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

2020

**ANALISIS KLINIS DAN HISTOLOGIS KRIM EKSTRAK  
*CHLORELLA VULGARIS* TERHADAP AKTIVITAS SEL  
FIBROBLAS PADA PROSES PENYEMBUHAN LUKA:  
EKSPERIMEN PADA HEWAN COBA**

oleh

**SUTIYO**

**NIM. J015181004**

Setelah membaca tesis ini dengan seksama, menurut pertimbangan kami,  
Tesis ini telah memenuhi persyaratan ilmiah

Makassar, Oktober 2020

Pembimbing I,

Prof. Dr. drg. Edy Machmud, Sp.Pro.(K)  
Nip.19631104 199401 1 001

Pembimbing II,

drg. Eri Hendra Jubhari, M.Kes., Sp.Pro.(K)  
Nip.19680623 199412 1 001

Mengetahui

Ketua Program Studi (KPS)

Bagian Prosidonsia FKG. UNHAS



drg. Irfan Darmar, Sp.Pro.(K)  
Nip.19700630 200904 1 003

**PENGESAHAN UJIAN TESIS**

**ANALISIS KLINIS DAN HISTOLOGIS KRIM EKSTRAK  
*CHLORELLA VULGARIS* TERHADAP AKTIVITAS SEL  
FIBROBLAS PADA PROSES PENYEMBUHAN LUKA:  
EKSPERIMEN PADA HEWAN COBA**

Diajukan oleh

**SUTIYO**

**NIM. J015181004**

Telah disetujui:

Makassar, Oktober 2020

Pembimbing I,

Prof. Dr. drg. Edy Machmud, Sp.Prof(K)  
Nip. 19631104 199401 1 001

Pembimbing II,

drg. Eri Hendra Jubhari, M.Kes., Sp.Prof(K)  
Nip. 19680623 199412 1 001

Ketua Program Studi (KPS)  
Bagian Prosthodontia FKG. UNHAS



drg. Irfan Dammar, Sp.Prof(K)  
Nip. 19770630 200904 1 003

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Hasanuddin



drg. Muhammad Ruslin, M.Kes., Ph.D., Sp.BM(K)  
Nip. 19730702 200112 1 001

**TESIS**

**ANALISIS KLINIS DAN HISTOLOGIS KRIM EKSTRAK  
CHLORELLA VULGARIS TERHADAP AKTIVITAS SEL FIBROBLAS  
PADA PROSES PENYEMBUHAN LUKA:  
EKSPERIMEN PADA HEWAN COBA**

Oleh :

**SUTIYO**

**NIM. J015181004**

Telah Disetujui  
Makassar, Oktober 2020

1. Penguji I : Prof. Dr. drg. Edy Machmud, Sp. Pros (K)
2. Penguji II : drg. Eri Hendra Jubhari, M.Kes, Sp.Pros(K)
3. Penguji III : Dr.drg. Ike Damayanti Habar, Sp.Pros(K)
4. Penguji IV : drg. Irfan Dammar, Sp.Pros(K)
5. Penguji V : drg. Muhammad Ikbal, Sp.Pros



Mengetahui

Ketua Program Studi (KPS)  
Bagian Prostodonsia FKG. UNHAS



drg. Irfan Dammar, Sp.Pros(K)  
NIP. 19770630 200904 1 003

## **PERNYATAAN KEASLIAN TESIS**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sutiyo

Nomor Mahasiswa : J015181004

Program Studi : Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis

Bidang Studi Prostodonsia

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Oktober 2020

Yang Menyatakan



Sutiyo

## KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan mengucapkan puji dan syukur kehadiran Allah SWT, atas berkat, rahmat, kekuasaan dan anugrah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Analisis Klinis Dan Histologis Krim Ekstrak *Chlorella Vulgaris* Terhadap Aktivitas Sel Fibroblas Pada Proses Penyembuhan Luka: Eksperimen Pada Hewan Coba”

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat:

1. Prof. Dr. drg. Bahruddin Thalib, M.Kes., Sp.Pros(K), sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin periode 2015-2019 atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti pendidikan Dokter Gigi Spesialis Prostodonsia Universitas Hasanuddin Makassar.
2. Prof. Dr. drg. Edy Machmud, Sp.Pros(K), sebagai pembimbing I yang telah meluangkan waktu, pikiran dan tenaga, dalam memberikan arahan, masukan serta dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan penelitian ini.
3. drg. Eri Hendra Jubhari, M.Kes, Sp.Pros(K), sebagai pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran dan tenaga, dalam memberikan arahan, masukan serta dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan penelitian ini.
4. drg. Irfan Dammar, Sp.Pros(K), sebagai Ketua Program Studi Prostodonsia dan sekaligus sebagai Penguji yang telah meluangkan waktu, pikiran dan tenaga,

dalam memberikan arahan, masukkan serta dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan penelitian ini.

5. Dr.drg. Ike Damayanti Habar, Sp.Pros(K), sebagai dosen dan penguji yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
6. drg. Muhammad Ikbal, Sp.Pros, sebagai sahabat rasa saudara, dosen dan penguji yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
7. Laboratorium Biofarmaka Universitas Hasanuddin, Makassar.
8. Klinik Sahabat Satwa SELEBES Veterinary Hospital, Jalan Nuri No. 39, Mattoangin, Mariso, Kota Makassar, Sulawesi Selatan 9012.
9. Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Universitas Hasanuddin, Makassar.
10. Peternakan Hewan Moncongloe Kabupaten Maros.
11. Sahabat angkatan Residen PPDGS Prosthodontia 2018 (Acing Habibie, Yonathan Guan, Andreas/JOJO, Irsal Wahyudi, Bashierah, Delvi, Nina dan Herawati).
12. Teman-teman angkatan 2017, 2019 dan 2020.
13. Terkhusus kepada:
  - a. Istri tercinta, dr Lista Andriyati, terimakasih atas segala doa, dukungan dan kesabaran selama penulis menuntut ilmu.
  - b. Orang tua kami, Kamdi dan Karminten, terima kasih atas segala doa dan dukungan kepada ananda selama ini.

- c. Adik-adik kami, Sriyati dan Arif Santoso, terima kasih atas segala doa, dukungan dan bantuan selama pendidikan.
- d. Mertua Kami, Suwali dan Nur Adiyati, terima kasih atas segala doa dan dukungan kepada ananda selama ini.
- e. Bidadari Kecilku Alike Alfathya dan Pangeranku Erza Muhammad Al-Fatih, yang selalu memberikan semangat, menemani serta penghibur kami selama pendidikan. Semoga menjadi anak yang Sholeh dan Soleha, Aamiin.

Akhirnya dengan penuh kesadaran dan kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih yang setulus-tulusnya serta penghargaan kepada semua pihak yang tidak sempat kami sebutkan satu persatu. Kiranya tesis ini dapat bermanfaat buat pembaca dan semoga Allah SWT melimpahkan Berkat dan Karunia-Nya kepada kita semua.

Aamiin.

Makassar, Oktober 2020

Penulis

## ABSTRAK

**SUTIYO:** Analisis Klinis Dan Histologis Krim Ekstrak *Chlorella Vulgaris* Terhadap Aktivitas Sel Fibroblas Pada Proses Penyembuhan Luka: Eksperimen Pada Hewan Coba. (Dibimbing oleh **Prof. Dr. drg. Edy Machmud, Sp.Pros(K)** dan **drg. Eri Hendra Jubhari, M.Kes, Sp.Pros(K)**).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis secara klinis dan histologis pemberian krim ekstrak *Chlorella vulgaris* secara topikal terhadap proses penyembuhan luka yang dilakukan pada hewan uji.

Penelitian ini merupakan penelitian *eksperimental laboratorium* dengan desain *post test only group* design. Sampel penelitian terdiri dari 9 ekor babi dengan membuat 4 luka sayat pada telinga kiri babi ukuran 2cm x 1cm, kedalaman luka 2-3mm dan diaplikasikan krim *Chlorella vulgaris* dalam 3 konsentrasi yaitu 5%, 10%, 15% dan tanpa aplikasi krim sebagai kelompok kontrol. Selanjutnya dilakukan pengamatan kondisi klinis luka dalam 3 time periode yaitu hari 3, 7 dan hari ke-14. Setiap selesai melakukan pengamatan klinis berdasarkan *time period* maka dilakukan pengambilan kulit telinga babi dengan pemotongan pada daerah yang telah dibuat perlakuan. Pengambilan jaringan kulit yang dilakukan dibawah anestesi inhalasi dan lokal. Potongan jaringan selanjutnya diproses di laboratorium patologi anatomi hingga menjadi 36 slide preparat. Untuk pengamatan klinis penilaian dengan menggunakan parameter kelembapan luka, warna luka dan keropeng luka. Sedangkan untuk pemeriksaan histologis dengan melihat jumlah sel fibroblas di mikroskop cahaya CX31 dengan pembesaran 40x. Selanjutnya data hasil perhitungan sel secara mikroskopis dianalisa dengan uji statistic Anova untuk melihat perbedaan rerata antar jenis perlakuan, distribusi sampel penelitian dan untuk mengetahui adanya perbedaan keadaan klinis antar kelompok perlakuan dan analisa Kruskal Wallis untuk menghitung jumlah sel fibroblas pada setiap kelompok perlakuan dan *time period*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada pengamatan klinis yaitu kelembapan luka, warna luka dan keropeng luka terdapat perbedaan yang signifikan

antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, begitu pula dengan pada pemeriksaan sel fibroblast terjadi perubahan penyembuhan yang signifikan dari 3 *time periode* setelah pemberian krim ekstrak *Chlorella vulgaris*. Krim ekstrak *Chlorella vulgaris* yang mengandung ekstrak konsentrasi 10% memberikan hasil yang terbaik dalam mempercepat proses penyembuhan luka sayat pada telinga babi dilihat dari penyembuhan luka dan peningkatan jumlah sel fibroblas. Semakin sempurna penyembuhan suatu luka maka semakin sedikit jumlah fibroblasnya, karena adanya fibroblast menunjukkan masih terjadinya proses penyembuhan luka.

**Kata Kunci:** *Chlorella vulgaris*, krim, kelembapan luka, keropeng luka, warna luka, sel fibroblas.

## ABSTRACT

**SUTIYO:** Clinical And Histological Analysis Of *Chlorella vulgaris* Extract Cream On Fibroblast Cell Activity In Wound Healing Process: Experiments On Experimental Animals. (Supervised by **Prof. Dr. drg. Edy Machmud, Sp.Pros(K)** and **drg. Eri Hendra Jubhari, M.Kes, Sp.Pros(K)**).

The purpose of this study was to analyze clinically and histologically the application of *Chlorella vulgaris* extract topical cream in wound healing process carried out in animals..

This is a laboratory experimental study with a post test only group design. The research sample consisted of 9 pigs by making 4 cuts in the left auricle of the pig, measuring 2cm x 1cm, wound depth 2-3mm and then applying *Chlorella vulgaris* cream in 3 concentrations ; 5%, 10%, 15% and without cream application as a control group. Furthermore, the clinical condition of the wound was observed in 3 time periods, day 3, 7 and day 14. After completing clinical observations based on the time period, the pig's ear skin was taken by cutting the area where the wound was made. Skin tissue removal was performed under local and inhalation anesthesia. The tissue pieces were then processed in the anatomical pathology laboratory to made 36 slide preparations. For clinical observations, the assessment used wound moisture, wound color and wound scab as parameters. Meanwhile, for histological examination by looking at the number of fibroblast cells in a CX31 light microscope with a 40x magnification. Furthermore, the data from microscopic cell counts were analyzed with the Anova statistical test to find the mean difference between the types of treatment, the distribution of the study samples and to distinguish the clinical conditions between treatment groups, and Kruskal Wallis analysis to calculate the number of fibroblast cells in each treatment group and the time period.

The results showed that wound humidity, wound color and wound scab, were significantly different between the treatment group and the control group, as

well as the examination of fibroblast cells there were significant changes in healing from the 3 time periods after administration of *Chlorella vulgaris* extract cream. *Chlorella vulgaris* extract cream 10% gave the best results to accelerate the wound healing process of pigs' auricle and increasing the number of fibroblast cells. The more perfect of wound healing, the less number of fibroblasts, because the presence of fibroblasts indicate that the wound healing process is still happening.

**Keywords:** *Chlorella vulgaris, cream, wound moisture, wound scab,*

*Wound color, fibroblast cells.*

## DAFTAR ISI

LEMBAR JUDUL	i
PRASYARAT GELAR	ii
PENGESAHAN UJIAN TESIS	iv
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	v
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRAK	x
<i>ABSTRACT</i>	xi
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR TABEL	xxi
DAFTAR LAMPIRAN	xxii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	7
I.2 Rumusan Masalah	7
I.3 Tujuan Penelitian	7
I.3.1 Tujuan Umum	7
I.3.2 Tujuan Khusus	7
I.4 Manfaat Penelitian	8
I.4.1 Manfaat Umum	8
I.4.2 Manfaat Khusus	8
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	9
II.1 Kulit	9
II.2 Luka	12
II.2.1 Mekanisme Penutupan Luka	13
II.2.2 Parameter Penyembuhan Luka	24

II.3	Fibroblas	26
II.3.1	Struktur Mikroskopis Fibroblas	29
II.4	<i>Chlorella Vulgaris</i>	31
II.4.1	Kandungan Utama dari <i>Chlorella vulgaris</i>	34
II.4.2	Manfaat <i>Chlorella Vulgaris</i> dalam Kedokteran Gigi	39
II.5	Sediaan Krim	40
II.5.1	Definisi	40
II.5.2	Fungsi Krim	40
II.5.3	Kualitas Dasar Krim	41
II.6	Hewan Uji	41
II.7	Etika Penelitian Menggunakan Hewan Coba	45
BAB III.	KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA	47
III.1	Kerangka Teori	47
III.2	Kerangka Konsep	48
III.3	Hipotesa Penelitian	49
BAB IV.	METODOLOGI PENELITIAN	50
IV.1	Jenis dan Desain Penelitian	50
IV.2	Lokasi dan Waktu Penelitian	50
IV.3	Jumlah dan Kriteria Sampel Penelitian	50
IV.4	Variabel Penelitian	52
IV.5	Definisi Operasional Variabel Penelitian	52
IV.6	Alat dan Bahan Penelitian	55
IV.7	Prosedur Penelitian	55
IV.8	Pembuatan Slide Histologi	62
IV.9	Pengamatan Histologi	65
IV.10	Analisis Data	66
IV.11	Alur Penelitian	67
BAB V	HASIL PENELITIAN	68
		78

<b>BAB VI PEMBAHASAN</b>	
VI.1 Pengaruh Pemberian Krim Ekstrak <i>Chlorella vulgaris</i> 5%, 10% dan	78
VI.2 Perubahan klinis luka dan penyembuhan luka antara waktu pengamatan hari ke-3, ke-7 dan ke-14	80
VI.3 Pengamatan histologi sel fibroblas antara waktu pengamatan hari ke-3, ke-7 dan hari ke-14	84
<b>BABA VII PENUTUP</b>	90
VII.1 Simpulan	90
VII.2 Saran	90
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	91
<b>LAMPIRAN</b>	96

## DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang / Singkatan	Arti dan Keterangan
CGF	Chlorella Growth Factor
IL	Interleukin
MMP	Matrix Metalloproteinase
DM	Diabetes Mellitus
TGF- $\alpha$	Transforming Growth Factor Alpha
TGF- $\beta$	Transforming Growth Factor Beta
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor
ROS	reactive oxygen spesies
BMZ	Basement Membrane Zone
EGF	Epidermal growth factor
KGF	Keratinocyte Growth Factor
$\alpha$ -SMA	$\alpha$ -Smooth Muscle Action
bFGF/FGF2	Basic Fibroblast Growth Factor
REK	Retikulum Endoplasma Kasar
CV	Chlorella vulgaris

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur anatomi kulit	9
2.2 Tiga fase penyembuhan luka, waktu dan sel karakteristik yang tampak pada waktu tertentu	14
2.3 Mekanisme penyembuhan luka: Perlukaan (1), Fase Inflamasi (2), Fase Proliferasi (3), Fase Remodelling (4)	19
2.4 Fase maturasi yang terjadi mulai hari ke-21 sampai sekitar 1 tahun	22
2.5 Peran Fibroblas dalam Membentuk dan Meletakkan Serat-serat dalam Matriks, Terutama Serat Kolagen	27
2.6 Penampang Sel Fibroblas dan Fibrosit	29
2.7 Struktur Chlorella sp	32
2.8 Fase reproduksi Chlorella vulgaris	33
2.9 Jenis Babi Landrace	43
4.1 Tiga babi perkandang dalam kandang hewan coba yang terbuat dari kayu	56
4.2 Pembuatan Ekstrak Chlorella vulgaris A Kultur 200 ml chlorella vulgaris, B. Hasil pengeringan dalam bentuk gel, C. gel yang diblender menjadi bubuk, D. Bubuk chlorella vulgaris	57
4.3 Pembuatan luka sayat pada sampel	60
4.4 Pembuatan Slide Histologi	65
4.5 Mikroskop cahaya (Olympus CX31, Made in Japan), B) Kamera trueChrome Metrics	66

5.1	Hasil pengamatan klinis luka hewan coba A1, A2 dan A3. Telinga kiri hewan coba hari ke-3 dengan aplikasi krim 5%, 10 %, 15 % dan kontrol pada kelompok perlakuan setiap hewan uji	68
5.2	Hasil pengamatan klinis luka hewan coba B1, B2 dan B3. Telinga kiri hewan coba hari ke-7 dengan aplikasi krim 5%, 10 %, 15 % dan kontrol pada kelompok perlakuan setiap hewan uji	69
5.3	Hasil pengamatan klinis luka hewan coba B1, B2 dan B3. Telinga kiri hewan coba hari ke-14 dengan aplikasi krim 5%, 10 %, 15 % dan kontrol pada kelompok perlakuan setiap hewan uji	69
5.4	Pengamatan klinis kelembaban luka pada 3 hari, 7 hari dan 14 har	72
5.5	Pengamatan klinis warna luka pada 3 hari,7 hari dan 14 hari	73
5.6	Pengamatan klinis keropeng luka pada 3 hari, 7 hari dan 14 hari	73
5.7	Perbedaan hasil pemeriksaan histologi jumlah sel fibroblas berdasarkan konsentrasi krim ekstrak <i>Chlorella vulgaris</i>	74
5.8	Perubahan jumlah sel fibroblas setelah aplikasi krim ekstrak <i>Chlorella vulgaris</i> hari ke-3 pada hewan coba 1 konsentrasi 5%, 10%, 15% dan tanpa aplikasi/control	76
5.9	Perubahan jumlah sel fibroblas setelah aplikasi krim ekstrak <i>Chlorella vulgaris</i> hari ke-7 pada hewan coba 1 konsentrasi 5%, 10%, 15% dan tanpa aplikasi/kontrol.	76

5.10	Perubahan jumlah sel fibroblas setelah aplikasi krim ekstrak Chlorella vulgaris hari ke-14 pada hewan coba 1 konsentrasi 5%, 10%, 15% dan tanpa aplikasi/kontrol.	77
6.1	Fase Penyembuhan Luka Setelah Aplikasi Krim ekstrak Chlorella vulgari	88

## DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Toksonomi <i>Chlorella vulgaris</i>	32
2.2 Kandungan Mineral pada <i>Chlorella vulgaris</i>	38
2.3 Kandungan Vitamin pada <i>Chlorella vulgaris</i>	38
2.4 Analisis komponen <i>Chlorella</i> kering per 100 gr	39
4.1 Parameter perubahan morfologi luka	61
5.1 Menunjukkan perbedaan kelembaban, warna luka, dan keropeng luka berdasarkan kelompok perlakuan pada 3 time period, 3 hari, 7 hari dan 14 hari	70
5.2 Perbedaan hasil pemeriksaan histologi jumlah sel fibroblas berdasarkan konsentrasi krim ekstrak <i>Chlorella vulgaris</i>	74

## **DAFTAR LAMPIRAN**

1. Data pengamatan klinis
2. Pengambilan sampel
3. Pengambilan spesimen telinga
4. Pembuatan preparat
5. Pengamatan klinis pada luka hewan uji
6. Gambaran histologi hewan uji
7. Rekomendasi Persetujuan Etik

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1. Latar belakang**

Dalam praktek kedokteran gigi, banyak tindakan perawatan yang akan menyebabkan perlukaan pada mukosa rongga mulut yang kemudian memerlukan penanganan yang baik untuk mencegah terjadinya infeksi yang serius. Penanganan luka yang dapat dilakukan berupa pemberian antiseptik, antibiotik dan perawatan luka pada umumnya.<sup>1</sup>

Pada kasus pencabutan gigi dan pemasangan implan gigi, inflamasi dapat terjadi karena trauma pencabutan dan pemasangan implan, tindakan tersebut dapat mengakibatkan terganggunya kontinuitas jaringan dan kerusakan jaringan yang disebut dengan luka. Penyembuhan luka pasca pencabutan gigi dan pemasangan implan gigi melibatkan proses penyembuhan pada jaringan lunak yaitu jaringan ikat dan epitel gingiva serta pada jaringan keras yaitu tulang alveolar. Keadaan ini terjadi karena setelah pencabutan gigi, trauma pencabutan tersebut menyebabkan terjadinya inflamasi, yang menyebabkan terjadinya resorpsi tulang alveolar. Pada kasus pencabutan gigi, inflamasi dapat terjadi karena trauma pencabutan, tindakan pencabutan gigi dapat mengakibatkan adanya sisa ridge yang sempit dan memendek serta menyebabkan atrofi tulang rahang. Apabila kondisi ini tidak segera diatasi maka dapat berpengaruh pada pembuatan gigi tiruan yang tidak optimal.<sup>2</sup>

Luka adalah terputusnya kontinuitas struktur anatomi jaringan tubuh yang bervariasi mulai dari yang paling sederhana seperti lapisan epitel dari kulit, sampai lapisan yang lebih dalam seperti jaringan subkutis, lemak dan otot bahkan tulang beserta struktur lainnya seperti tendon, pembuluh darah dan syaraf, sebagai akibat dari trauma atau rusak paksa atau trauma dari luar.<sup>3</sup>

Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang melibatkan respon seluler dan biokimia baik secara lokal maupun sistemik melibatkan proses dinamis dan kompleks dari koordinasi serial termasuk pendarahan, koagulasi, inisiasi respon inflamasi akut segera setelah trauma, regenerasi, migrasi dan proliferasi jaringan ikat dan sel parenkim, serta sintesis protein matriks ekstraselular, remodeling parenkim dan jaringan ikat serta deposisi kolagen. Penyembuhan luka melibatkan interaksi yang kontinu antara sel-sel dan sel-matriks yang terlihat dalam 4 fase penyembuhan luka yaitu fase koagulasi, fase inflamasi, fase proliferasi - migrasi dan fase *remodeling*.<sup>1,4</sup>

Penggunaan bahan alami dalam dunia kesehatan cenderung meningkat, tak terkecuali dalam bidang kedokteran gigi. Keunggulan bahan alami yaitu efek samping yang minimal dan aman bagi tubuh. *Chlorella vulgaris* memiliki kapasitas antioksidan yang tinggi dan dengan demikian bisa menjadi sumber baru antioksidan alami yang potensial. Banyak senyawa bioaktif dari mikroalga yang memiliki sifat biologis dan farmakologis yang sulit disintesis secara kimiawi dan diketahui senyawa

tersebut berpotensi sebagai suplementasi pangan, kosmetika, kesehatan, nutraseutikal, bioenergi, industri pertanian dan farmasetika.<sup>5</sup>

*Chlorella vulgaris* adalah ganggang hijau yang telah banyak digunakan sebagai makanan kesehatan. *Chlorella vulgaris* terdiri dari 4 komponen yang memiliki efek kesehatan nyata yaitu klorofil, dinding sel, beta karoten dan *Chlorella Growth Factor* (CGF). *Chlorella vulgaris* mempunyai sejumlah sifat yang bermanfaat bagi organ dan jaringan tubuh yang luka dengan berbagai penyebab sehingga disebut “*great normalizer*” yaitu kemampuan *Chlorella vulgaris* yang besar untuk mengembalikan berbagai fungsi tubuh ke taraf normal.<sup>6</sup> *Chlorella vulgaris* diduga mampu menyembuhkan luka berdasarkan kemampuannya sebagai imunostimulan, memiliki aktifitas antiinflamasi, serta mendukung pembentukan fibrin.<sup>7</sup>

*Chlorella vulgaris* diduga mempunyai zat yang bersifat imunostimulan secara tidak langsung yang terlihat dari peningkatan aktifitas beberapa jenis leukosit dan kemampuannya melawan berbagai penyebab penyakit, termasuk kanker. Aktifitas ini menyerupai stimulasi imun dari interleukin I dan II. Potongan rantai asam lemak tertentu dalam *Chlorella vulgaris* menghasilkan antibiotik yang disebut chlorellin. Beta karotena sendiri merupakan prekursor vitamin A yang dapat berperan sebagai perangsang imunitas non-spesifik.<sup>7</sup>

*Chlorella* juga diduga dapat berperan sebagai zat antiinflamasi karena kemampuannya mengurangi sekresi sitokin-sitokin yang berkaitan dengan aktivitas peradangan, seperti beberapa jenis *interleukin* (IL) dan juga *matrix metalloproteinase* (MMP) yang berfungsi merusak jaringan. *Chlorella vulgaris* mengandung klorofil yang berkaitan dengan pertumbuhan dan perkembangan fibroblast, pada konsentrasi tertentu bersifat antiproteolitik dan merangsang pertumbuhan jaringan. Klorofil dalam konsentrasi 0,05-0,5% dipercaya dapat mengaktifasi dan memperbanyak fibroblast yang berguna dalam proses penyembuhan luka.

6,7

Fibroblas sangat berperan dalam proses perbaikan jaringan yang bertanggungjawab pada persiapan menghasilkan produk protein yang akan digunakan dalam rekonstruksi jaringan. Oleh karena itu jumlah sel fibroblast menjadi salah satu parameter dalam melihat proses penyembuhan luka.<sup>6,7</sup>

Dewasa ini berkembang perawatan dibidang kedokteran dan kesehatan menggunakan bahan alami dari tumbuhan, telah dilakukan penelitian *in vivo* untuk membuktikan pengaruh ekstrak *Chlorella vulgaris* dari Sediaan krim, salep dan gel terhadap mukosa hewan coba. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bentuk sediaan ekstrak *Chlorella vulgaris* dalam bentuk salep, krim dan gel memberikan pengaruh terhadap penyembuhan mukosa mulut hewan coba. Astrini dalam penelitiannya melakukan uji gel ekstrak *Chlorella vulgaris*, gel dengan segala

konsentrasi 15% merupakan gel dengan viskositas yang paling baik karena, memiliki daya sebar paling rendah, viskositas gel yang memenuhi standar memiliki bentuk, warna dan bau yang sesuai dan tidak terjadi pemisahan fase pada saat dilakukan pengocokan sampel.<sup>8</sup>

Penelitian Putri Alpiyanti melakukan uji sediaan salep *Chlorella vulgaris* menyimpulkan bahwa sediaan salep 5% diluar mulut adalah yang terbaik dalam uji formulasi dengan daya sebar yang baik, pH yang paling normal, viskositas yang memenuhi standar, memiliki bentuk, warna dan bau dan tidak terjadi fase pemisahan setelah pencampuran. Sedangkan untuk uji dalam mulut, dalam hal ini mukosa mulut mencit memperlihatkan bahwa salep ekstrak *Chlorella vulgaris* 15% menunjukkan hasil yang terbaik dibandingkan konsentrasi yang lain setelah aplikasi.<sup>8</sup>

Indah Faradiba melakukan uji krim ekstrak *Chlorella vulgaris* menyimpulkan bahwa sediaan krim 10% lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi 5% dan 15% dimana semua sediaan tidak menimbulkan iritasi pada mukosa hewan uji. Ketiga penelitian ini sebagai langkah awal dengan melakukan aplikasi ekstrak *Chlorella vulgaris* 5%, 10% dan 15% pada mukosa mulut mencit dan hasilnya menunjukkan bahwa bentuk sediaan ekstrak *Chlorella vulgaris* pada ketiga konsentrasi tidak menyebabkan iritasi pada mukosa mencit.<sup>8</sup>

Aplikasi bentuk sediaan *Chlorella vulgaris* pada penelitian tersebut dilakukan pada mukosa mulut tanpa perlukaan sehingga perlu penelitian

lanjutan dengan membuat perlakuan untuk menguji efektifitas setiap konsentrasi sediaan ekstrak *Chlorella vulgaris* dan mendapatkan jenis sediaan dan konsentrasi yang lebih tepat untuk penyembuhan luka pada rongga mulut dalam hal ini pada luka bekas pencabutan dan proses *remodelling* pasca implanasi.

Penelitian ini merupakan penelitian bersama antara FKG UNHAS Makassar dengan Taiwan Medical University dalam hal pengembangan Implan gigi, Bone Graft dan zat bio aktif (*canadibiol* dan *Clorella vulgaris*) yang dilakukan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar. Penggunaanya zat bioaktif ini dipergunakan didalam dan diluar rongga mulut. Penggunaan gel *Clorella vulgaris* dan *canadibiol* dipergunakan di dalam mulut dan sediaan salep dan krim *Clorella vulgaris* dipergunakan di luar mulut.

Dalam bidang prostodonsia penggunaan *Chlorella vulgaris* kedepannya dapat digunakan sebagai pengobatan luka pasca pencabutan gigi dalam pembuatan gigi tiruan *immediate*, pemasangan implan pada gigi dan perawatan kelainan maksilofasial. Oleh karena itu, pada penelitian ini peneliti ingin menganalisis secara klinis dan histologis krim ekstrak *Chlorella vulgaris* terhadap aktivitas sel fibroblas pada proses penyembuhan luka yang dilakukan pada hewan uji.

## **I.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas maka dapat dirumuskan permasalahan bagaimana analisa klinis dan histologi aplikasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* terhadap aktivitas sel fibroblas pada proses penyembuhan luka yang dilakukan pada hewan uji?

## **I.3 Tujuan Penelitian**

### **I.3.1 Tujuan Umum**

Menganalisis secara klinis dan histologis pemberian krim ekstrak *Chlorella vulgaris* secara topikal terhadap proses penyembuhan luka yang dilakukan pada hewan uji.

### **I.3.2 Tujuan Khusus**

Adapun tujuan khusus dari penelitian ini adalah:

- Untuk mendapatkan kosentrasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* yang paling baik dalam mempercepat proses penyembuhan luka sayat pada telinga babi
- Untuk melihat struktur dan morfologi sel fibroblas pada proses penyembuhan luka setelah pemberian aplikasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* 5%, 10% dan 15% serta pada kelompok kontrol

## **I.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Umum**

Dapat menjelaskan tentang mekanisme penyembuhan luka setelah aplikasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris*.

### **1.4.2 Manfaat Khusus**

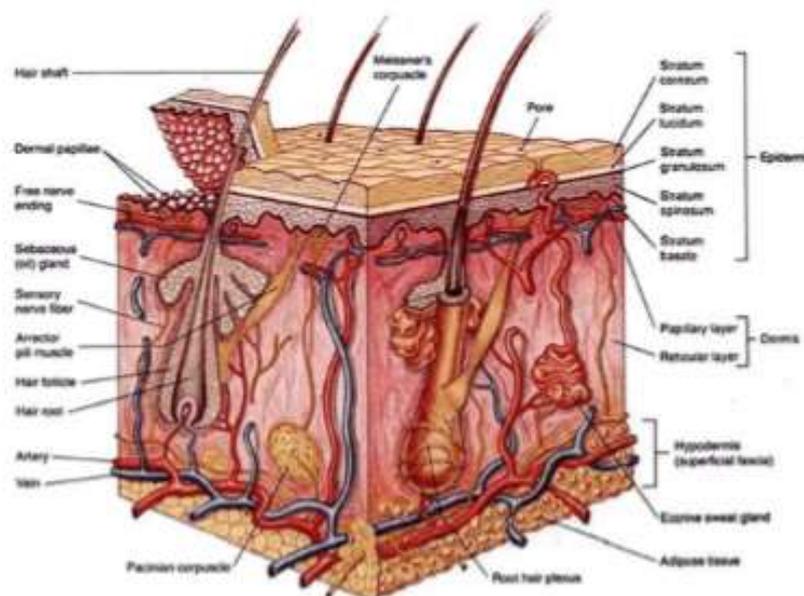
- a. Terdokumentasinya efek *Chlorella vulgaris* dalam bidang prostodontia sebagai bahan bioaktif mempercepat penyembuhan mukosa sehingga dapat menjadi dasar pada penggunaannya dirongga mulut dalam hal ini perawatan implanasi.
- b. Menambah khasanah ilmu pengetahuan dokter gigi akan proses penyembuhan tulang dengan menggunakan bahan-bahan yang melimpah di alam yang dapat memberikan faedah yang besar bagi dunia kesehatan.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1. Kulit

Kulit adalah organ tunggal yang terberat di tubuh, yang biasanya membentuk 15-20% berat badan total, memiliki luas permukaan sebesar 1,5-2 m<sup>2</sup> yang terpapar dengan dunia luar. Kulit merupakan organ istimewa. Berbeda dengan organ lain, kulit terletak pada sisi terluar. Dari kulit, muncul berbagai aksesoris; rambut (kasar dan halus), kuku, dan kelenjar (sekretnya terurai oleh mikroorganisme dan keluarlah bau).<sup>9</sup>



Gambar 2.1 Struktur anatomi kulit. (Sumber: Adams CA, Biffi WL, Cioffi WG. Wounds, Bites and Stings. In: Feliciano DV (eds.) Trauma. 7th. Ed. New York: McGrawHill: 2008;1029–48)

Kulit menjalankan berbagai tugas dalam memelihara kesehatan yang meliputi fungsi, yaitu.<sup>11</sup>

- a. Perlindungan fisik (terhadap gaya mekanik, sinar ultraviolet, bahan kimia)
- b. Perlindungan imunologik
- c. Ekskresi
- d. Pengindra
- e. Pengaturan suhu tubuh
- f. Pembentukan vitamin D
- g. Kosmetik

Fungsi-fungsi tersebut secara spesifik juga dapat terbagi menjadi sejumlah kategori umum, yaitu:<sup>9</sup>

- a. Protektif

Kulit menyediakan sawar fisis terhadap rangsang termal dan mekanis seperti gaya gesekan dan kebanyakan patogen potensial dan materi lain. Mikroorganisme yang mempenetrasi kulit memberi peringatan limfosit dan sel penyaji-antigen di kulit dan respon imun meningkat. Pigmen melanin gelap di epidermis melindungi sel dari radiasi ultraviolet. Kulit juga merupakan sawar permeabel terhadap kehilangan atau ambilan air yang berlebihan, yang memungkinkan kehidupan di muka bumi. Permeabilitas kulit selektif memungkinkan

sejumlah obat lipofilik seperti hormon steroid tertentu dan obat-obatan yang diberikan melalui koyo.

#### b. Sensorik

Banyak tipe reseptor sensorik yang memungkinkan kulit memantau lingkungan dan berbagai mekanoreseptor dengan lokasi spesifik di kulit penting untuk interaksi tubuh dengan objek fisis.

#### c. Termoregulatorik

Temperatur tubuh yang konstan normalnya lebih mudah dipertahankan berkat komponen insulator kulit (misalnya, lapisan lemak dan rambut di kepala) dan mekanismenya untuk mempercepat pengeluaran panas (produksi keringat dan mikrovaskular superfisial yang padat).

#### d. Metabolik

Sel kulit mensintesis vitamin D<sub>3</sub>, yang diperlukan pada metabolisme kalsium dan pembentukan tulang secara tepat melalui kerja sinar UV setempat pada prekursor vitamin ini. Kelebihan elektrolit dapat dihilangkan melalui keringat dan lapisan subkutan menyimpan sejumlah energi dalam bentuk lemak.

#### e. Sinyal Seksual

Banyak gambaran kulit, seperti pigmentasi dan rambut, adalah indikator visual kesehatan yang terlibat dalam ketertarikan antara jenis

kelamin pada semua spesies vertebrata, termasuk manusia. Efek feromon seks yang dihasilkan kelenjar keringat apokrin dan kelenjar lain di kulit juga penting untuk ketertarikan tersebut.

Selain dikenal sebagai lapisan kutaneus atau integumen, kulit terdiri atas epidermis, yaitu lapisan epitel yang berasal dari ektoderm dan dermis, suatu lapisan jaringan ikat yang berasal dari mesoderm. Turunan epidermis meliputi rambut, kuku, kelenjar sebacea dan kelenjar keringat. Di bawah dermis terdapat hipodermis atau jaringan subkutan, yaitu jaringan ikat longgar yang dapat mengandung bantalan adiposit. Jaringan subkutan mengikat kulit secara longgar pada jaringan di bawahnya dan sesuai dengan fasia superfisial pada anatomi makro. Dalam menjalankan berbagai fungsi di atas, lapisan kulit tersebut bertindak sebagai satu kesatuan yang terkait satu dengan yang lain.<sup>11,12</sup>

## **II.2 LUKA**

Luka adalah terputusnya kontinuitas struktur anatomi jaringan tubuh yang bervariasi mulai dari yang paling sederhana seperti lapisan epitel dari kulit, sampai lapisan yang lebih dalam seperti jaringan subkutis, lemak dan otot bahkan tulang beserta struktur lainnya seperti tendon, pembuluh darah dan saraf, sebagai akibat dari trauma atau ruda paksa atau trauma dari luar.<sup>3</sup> Luka menyebabkan gangguan pada fungsi dan struktur anatomi tubuh. Berdasarkan waktu dan proses penyembuhannya, luka dapat diklasifikasikan menjadi luka akut dan kronik.<sup>4</sup>

Luka akut merupakan cedera jaringan yang dapat pulih kembali seperti keadaan normal dengan bekas luka yang minimal dalam rentang waktu 8-12 minggu. Penyebab utama dari luka akut adalah cedera mekanik karena faktor eksternal, yaitu terjadi kontak antara kulit dengan permukaan yang keras atau tajam, luka tembak, dan luka pasca operasi. Penyebab lain luka akut adalah luka bakar dan cedera kimiawi, seperti terpapar sinar radiasi, tersengat listrik, terkena cairan kimia yang bersifat korosif, serta terkena sumber panas.<sup>4</sup>

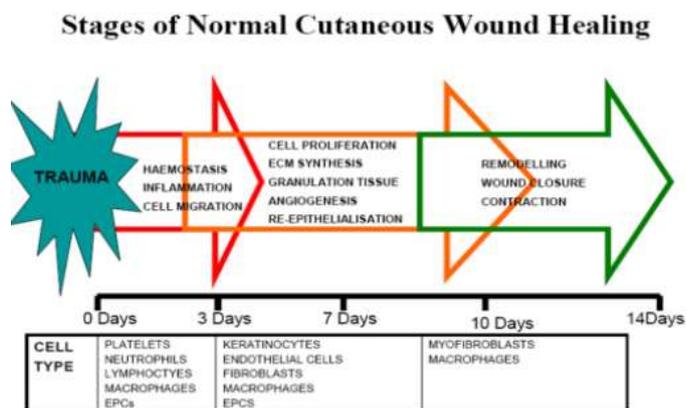
Sementara luka kronik merupakan luka dengan proses pemulihan yang lambat, dengan waktu penyembuhan lebih dari 12 minggu dan terkadang dapat menyebabkan kecacatan. Ketika terjadi luka yang bersifat kronik, neutrofil dilepaskan dan secara signifikan meningkatkan enzim kolagenase yang bertanggung jawab terhadap destruksi dari matriks penghubung jaringan. Salah satu penyebab terjadinya luka kronik adalah kegagalan pemulihan karena kondisi fisiologis seperti diabetes melitus (DM) dan kanker, infeksi terus-menerus, dan rendahnya tindakan pengobatan yang diberikan.<sup>4</sup>

### **II.2.1. Mekanisme Penutupan Luka**

Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang melibatkan respon sel dan biokimia baik secara lokal maupun sistemik melibatkan proses dinamis dan kompleks dari koordinasi serial termasuk pendarahan, koagulasi, inisiasi respon inflamasi akut segera setelah trauma, regenerasi, migrasi dan proliferasi jaringan ikat dan sel parenkim, serta sintesis protein

matriks ekstrasel, remodeling parenkim dan jaringan ikat serta deposisi kolagen. Sel yang paling berperan dari semua proses ini adalah sel makrofag, yang berfungsi mensekresi sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi serta growth factors, fibroblast dan kemampuannya mensintesis kolagen yang mempengaruhi kekuatan tensile strength luka dan mengisi jaringan luka kembali ke bentuk semula, kemudian diikuti oleh sel-sel keratinosit kulit untuk membelah diri dan bermigrasi membentuk reepitelisasi dan menutupi area luka.<sup>13</sup>

Penutupan luka normal mengikuti pola pola yang dapat diperkirakan yang dapat dibagi menjadi beberapa fase yang berdasar perubahan selular dan aktivitas biokimia. Fase fase penutupan luka terdiri dari tiga fase yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi. Secara umum, penyembuhan luka dibagi dalam 3 fase (gambar 2.2).<sup>14,15</sup>



Gambar 2.2 Tiga fase penyembuhan luka, waktu dan sel karakteristik yang tampak pada waktu tertentu (sumber Primadina N, Basori A, Perdanakusuma DS. Proses penyembuhan luka ditinjau dari aspek mekanisme seluler dan molekuler. Qanun Med. 2019;3(1):31–43. <http://10.30651/jgm.v3i1.2198>)

## 1. Fase Inflamasi (Fase Hemostasis)

Inflamasi merupakan reaksi awal bila tubuh terkena luka. Fase ini terjadi segera setelah cedera dan dapat berlangsung sampai 4-6 hari. Reaksi awal adalah terjadinya vasodilatasi lokal, keluarnya darah dan cairan menuju ruangan ekstrasvaskuler, dan terhambatnya aliran limfatik. Semua ini mengakibatkan timbulnya tanda-tanda utama untuk terjadinya suatu inflamasi, termasuk bengkak, merah dan panas. Respon inflamasi akut ini biasanya antara 24-48 jam dan dapat menetap diatas 2 minggu untuk beberapa kasus. Fase ini merupakan tahap awal yang alami untuk mengangkat jaringan debris dan mencegah infeksi yang invasive.<sup>16,17,18,19</sup>

Fase ini dibagi menjadi dua yaitu respon vaskular dan respon seluler. Pada respon vaskular, perdarahan terjadi segera sesudah jaringan cedera sebagai akibat dari terganggunya atau rusaknya pembuluh darah. Langkah pertama dari proses penyembuhan luka adalah hemostasis. Hemostasis terdiri dari dua proses utama: pembentukan fibrin clot dan koagulasi. Platelet adalah sel pertama yang muncul sesudah terjadinya cedera dan mengatur hemostasis normal. Perubahan trombin menjadi fibrinogen dan kemudian menjadi fibrin selama agregasi platelet, menyebabkan fibrin clot terbentuk dan menghentikan perdarahan.<sup>17,19</sup>

Komponen kedua dari hemostasis adalah koagulasi melalui intrinsik dan *ekstrinsik coagulation pathways*. Kerusakan jaringan

melepaskan lipoprotein yang dikenal sebagai tissue factor. Platelet meningkatkan pembentukan jaringan baru melalui pelepasan beberapa growth factors kuat yang berpengaruh pada perbaikan luka, seperti *transforming growth factor alpha* (TGF- $\alpha$ ), *transforming growth factor beta* (TGF- $\beta$ ), dan *platelet-derived growth factor* (PDGF).<sup>17,19</sup>

Pada respon seluler, ciri-ciri fase inflamasi adalah masuknya lekosit ke daerah luka. Segera setelah terjadinya luka sel netrofil dalam jumlah besar berpindah dari kapiler menuju jaringan luka, kemudian jumlah netrofil menurun dan digantikan dengan makrofag (perubahan dari monosit). Monosit segera berubah menjadi makrofag pada jaringan luka fase selanjutnya, kurang lebih dalam 48 sampai 72-96 jam setelah luka. Monosit ini ditarik ke jaringan luka oleh chemoattractans yang sama dengan netrofil, juga oleh monocyte chemoattractant protein dan macrophage inflammatory protein, oleh produk dari degradasi matriks ekstraseluler seperti fragmen kolagen, fragmen fibronectin, dan thrombin.<sup>16,17,18,19</sup>

Makrofag berperan penting dalam pengaturan sel seperti fungsi fagositosis, memakan dan mencerna serta membunuh organisme patogen, membersihkan debris jaringan dan merusak sisa netrofil, menarik fibroblas ke jaringan luka dan memicu pembuluh darah baru. Makrofag merupakan pabrik produksi growth factors seperti PDGF, fibroblast growth factor (FGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), TGF- $\beta$ , dan TGF- $\alpha$ .<sup>19,20</sup>

Dalam fase inflamasi ini, netrofil dan makrofag menghasilkan sejumlah besar anion superoksid radikal, yang sering digambarkan sebagai 'respiratory burst'. Kemudian sel lain seperti fibroblas dirangsang oleh sitokin pro inflamasi untuk memproduksi *reactive oxygen spesies* (ROS). Selain efek positif untuk membunuh bakteri, ROS ini juga berdampak negatif, menghambat migrasi sel, merusak jaringan dan bahkan berubah menjadi neoplasma. Untuk melindungi dari stres oksidatif, sel-sel mempunyai beberapa sistem untuk mendetoksifikasi ROS, yaitu secara non-enzimatik dan enzimatik.<sup>20,21</sup>

Suatu luka disebut luka kronis bila fase inflamasi menetap berbulan-bulan bahkan tahunan. Fase inflamasi menetap pada keadaan luka yang hipoksia, infeksi, defisiensi nutrisi, penggunaan obat-obatan tertentu, atau faktor lain yang dihubungkan dengan respon imun pasien. Luka kronis membentuk jaringan nekrotik yang tercemar oleh organisme patogen atau mengandung material asing yang tidak dapat di fagositosis selama fase akut inflamasi. Granulosit tidak muncul, sebaliknya sel mononuklear terutama limfosit, monosit, dan makrofag menetap pada daerah inflamasi.<sup>17,21</sup>

## **2. Fase Proliferasi**

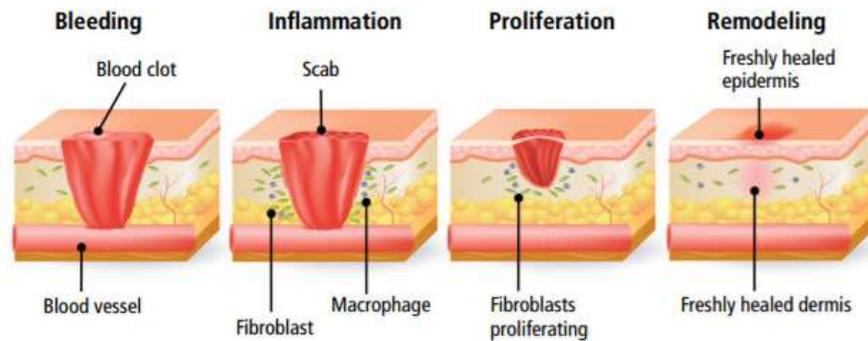
Fase proliferasi dimulai setelah respon akut dari hemostasis dan inflamasi mulai berhenti, perbaikan luka mulai dilakukan dengan angiogenesis, fibroplasia dan epitelisasi. Pada fase ini ditandai dengan

penyusunan jaringan granulasi yang terdiri dari anyaman kapiler, fibroblasts, makrofag, jaringan kolagen longgar, fibronectin dan asam hyaluronat. Fase ini dimulai sekitar hari ketiga yang ditandai dengan peningkatan drastis dari koloni sel dan produksi kolagen. Produksi kolagen sebenarnya telah dapat dideteksi mulai sepuluh jam setelah trauma, mencapai puncaknya pada hari ketujuh, dimana luka telah terisi penuh oleh jaringan kolagen.<sup>21,22,23</sup>

Fibroblas dan myofibroblas di jaringan sekitar akan berproliferasi selama tiga hari pertama lalu akan tertarik dan bermigrasi ke tempat perlukaan oleh TGF- $\beta$  dan *platelet derived growth factor*(PDGF) yang dilepaskan oleh sel yang terinflamasi dan keping – keping darah. Fibroblas pada luka muncul pertama kali pada hari ke-3 setelah perlukaan dan berproliferasi dengan aktif dan menghasilkan protein matriks seperti fibronectin, proteoglycan dan prokolagen tipe 1 dan tipe 3, kesemuanya ini terjadi hanya lokal saja.<sup>24</sup>

Pada akhir minggu pertama terdapat akumulasi ECM yang banyak, ECM ini selanjutnya akan membantu migrasi sel dan penting pada proses repair. Fibroblas yang telah bermigrasi akan berubah secara fenotipnya menjadi myofibroblas yang terdiri dari gulungan actin yang tebal di bawah membran plasma dan mempunyai pseudopodia yang aktif untuk melekatkan diri ke fibronectin dan kolagen pada ECM. Kontraksi luka merupakan kejadian yang penting dari proses reparasi yang membantu untuk memperkecil tepi luka. Setelah selesai

menjalankan tugasnya, tumpukan fibroblas ini akan dihilangkan dengan apoptosis.<sup>24</sup>



Gambar 2.3 Mekanisme penyembuhan luka: Perlukaan (1), Fase Inflamasi (2), Fase Proliferasi (3), Fase Remodelling (4) (sumber: Adams CA., Biffl WL, Cioffi WG. Wounds, Bites and Stings. In: Feliciano DV (eds.) Trauma. 7th. Ed. New York: McGrawHill: 2008;1029–48)

Kolagen merupakan komponen yang penting pada tiap fase penyembuhan luka. Kolagen disintesis oleh fibroblas, kolagen ini memberikan integritas dan kekuatan pada berbagai jaringan dan berperan penting khususnya pada fase proliferasi dan remodeling. Kolagen bertindak sebagai pondasi pembentukan matriks intraselular pada luka.<sup>24</sup>

Modeling dan terbentuknya pembuluh darah baru merupakan hal yang penting pada penyembuhan luka dan terdapat pada semua fase dari proses reparative. Sejumlah faktor angiogenic yang disekresi selama fase haemostasis akan merangsang angiogenesis. Keseimbangan yang baik terpelihara oleh faktor aktivasi dan inhibisi.<sup>24</sup>

Migrasi sel – sel epitel dimulai dari tepi luka dalam beberapa jam setelah perlukaan. Selapis sel – sel yang terbentuk sebagai awalan

dilanjutkan dengan peningkatan yang nyata dari aktivitas mitosis sel epitel di sekitar tepian luka. Sel – sel bermigrasi melalui lapisan tersebut menempel pada matriks sementara di bawahnya. Migrasi akan terhenti ketika sel – sel epitel matur bertemu dan dilanjutkan dengan pembentukan basement membran.<sup>26</sup>

Banyaknya jaringan granulasi pada luka tergantung dari ukuran dan dalam dari luka, jika luka dibiarkan menyembuh secara sekunder. Luka yang besar perlu untuk diisi dengan jaringan granulasi sehingga sel epitel dari pinggir pinggir luka dapat bermigrasi dan membuat epitel baru pada luka. Akhirnya jaringan granulasi yang terdiri dari ikatan fibrin-fibronectin yang merupakan pembentuk bekuan darah bersama dengan jaringan pengganti sementara matriks luka yang terdiri dari proteoglikan, glikosaminoglikan, dan asam hyaluronat akan digantikan oleh kolagen, kapiler-kapiler baru, berbagai sel radang dan fibroblas.<sup>27</sup>

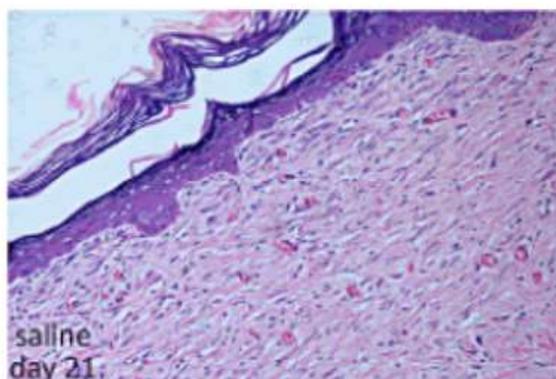
Angiogenesis berlangsung proporsional untuk perfusi darah dan tekanan parsial oksigen arteri. Pembuluh darah baru tumbuh ke dalam matriks kolagen dibentuk oleh fibroblas. Secara klinis, kontraksi luka adalah respon alami dari tubuh untuk melokalisasi dan membuat daerah lebih kecil serta melindungi dirinya dari semua dampak negatif luka. Luka yang sembuh dengan sendirinya tanpa perawatan khusus menunjukkan ini kekuatan dari tindakan kontraksi luka. Sebenarnya epitelisasi mulai terjadi segera setelah luka dan dirangsang oleh *cytokine inflammatory*.<sup>28</sup>

Terakhir, epitelisasi ditandai dengan replikasi dan migrasi. Proses ini mengembalikan epidermis utuh seperti semula. Faktor yang terlibat adalah migrasi keratinosit pada jaringan luka, proliferasi keratinosit, diferensiasi neoepitelium menjadi epidermis yang berlapis-lapis, dan mengembalikan Basement Membrane Zone (BMZ) menjadi utuh yang menghubungkan epidermis dan dermis.<sup>17</sup>

Epidermal growth factor (EGF), keratinocyte growth factor (KGF), dan TGF- $\alpha$  merupakan faktor penting untuk merangsang migrasi keratinosit, proliferasi, dan epitelisasi. Hari ke 7-9 sesudah epitelisasi, BMZ terbentuk. Struktur kulit pada BMZ terdiri dari banyak protein matriks ekstraseluler seperti kolagen dan laminins. Pada luka yang dibiarkan menyembuh secara sekunder dan pada sebagian kecil luka yang menyembuh secara primer, akan mengalami fenomena yang disebut kontraksi luka. Kontraksi luka merupakan suatu proses dimana pinggir pinggir luka dan kulit sekitarnya ditarik menuju ke pusat luka. Proses kontraksi luka ini biasanya terjadi sekitar minggu pertama setelah terjadinya luka, dan mencapai puncaknya pada hari ke sepuluh, dengan kecepatan sekitar 0,75 mm per hari. Proses ini merupakan cara yang paling efisien untuk mengurangi luas permukaan luka sehingga menurunkan kebutuhan pembentukan epitel untuk menutup luka.<sup>29</sup>

### 3. Fase Maturasi (Remodeling)

Fase maturasi (gambar 2.4) ini berlangsung mulai hari ke-21 hingga sekitar 1 tahun yang bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural jaringan baru pengisi luka, pertumbuhan epitel dan pembentukan jaringan parut. Segera setelah kavitas luka terisi oleh jaringan granulasi dan proses reepitelialisasi usai, fase ini pun segera dimulai. Pada fase ini terjadi kontraksi dari luka dan remodeling kolagen. Kontraksi luka terjadi akibat aktivitas fibroblas yang berdiferensiasi akibat pengaruh sitokin TGF- $\beta$  menjadi myofibroblas, yakni fibroblas yang mengandung komponen mikrofilamen aktif intraselular. Myofibroblast akan mengekspresikan  $\alpha$ -Smooth Muscle Action ( $\alpha$ -SMA) yang akan membuat luka berkontraksi. Matriks intraselular akan mengalami maturasi dan asam hyaluronat dan fibronectin akan di degradasi.<sup>3</sup>



Gambar 2.4 Fase maturasi yang terjadi mulai hari ke-21 sampai sekitar 1 tahun (Sumber: Primadina N, Basori A, Perdanakusuma DS. Proses penyembuhan luka ditinjau dari aspek mekanisme seluler dan molekuler. Qanun Med. 2019;3(1):31–43. <http://10.30651/jgm.v3i1.2198>)

Sekitar 80% kolagen pada kulit adalah kolagen tipe I dan 20% kolagen tipe III yang memungkinkan terjadinya *tensile strength* pada kulit. Diameter serat kolagen akan meningkat dan kolagen tipe III pada fase ini secara gradual digantikan oleh kolagen tipe I dengan bantuan matrix metalloproteinase (MMP) yang disekresi oleh fibroblas, makrofag & sel endotel. Sedangkan pada jaringan granulasi mengekspresikan kolagen tipe III sebanyak 40%.<sup>18,30</sup>

Pada fase ini terjadi keseimbangan antara proses sintesis dan degradasi kolagen serta matriks ekstrasel. Kolagen yang berlebihan didegradasi oleh enzim kolagenase dan kemudian diserap. Sisanya akan mengerut sesuai tegangan yang ada. Hasil akhir dari fase ini berupa jaringan parut yang pucat, tipis, lemas, dan mudah digerakkan dari dasarnya. Setidaknya terdapat tiga prasyarat kondisi lokal agar proses penyembuhan luka dapat berlangsung dengan normal, yaitu: 1) semua jaringan di area luka dan sekitarnya harus vital, 2) tidak terdapat benda asing, dan 3) tidak disertai kontaminasi eksusif atau infeksi.<sup>30</sup>

Fase remodelling jaringan parut adalah fase terlama dari proses penyembuhan. Pada umumnya *tensile strength* pada kulit dan fascia tidak akan pernah mencapai 100%, namun hanya sekitar 80% dari normal, karena serat-serat kolagen hanya bisa pulih sebanyak 80% dari kekuatan serat kolagen normal sebelum terjadinya luka. Kekuatan akhir yang dicapai tergantung pada lokasi terjadinya luka dan durasi lama perbaikan jaringan yang terjadi. Sintesis dan degradasi kolagen dan

matriks ekstraseluler terjadi secara simultan dan biasanya terjadi keseimbangan antara kedua proses hingga 3 minggu setelah terjadinya luka sebelum akhirnya terjadi kestabilan.<sup>30</sup>

### **II.2.2 Parameter Penyembuhan Luka**

Terdapat beberapa parameter dalam penyembuhan luka yang dapat diamati baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Secara makroskopis dapat dilihat dari berkurangnya luas luka, sedangkan secara mikroskopis dapat diperiksa secara histopatologi jumlah sel-sel radang (neutrofil, makrofag, dan limfosit), jaringan granulasi, jumlah neovaskuler, presentase re-epitelisasi, dan kepadatan jaringan ikat (fibroblas). Jumlah neovaskuler, presentase epitelisasi, dan kepadatan jaringan ikat (fibroblas) merupakan parameter penyembuhan luka yang paling umum digunakan untuk menilai progress kesembuhan luka. Hal ini karena ketiga parameter tersebut terlibat dalam proses yang penting dalam proses penyembuhan luka.<sup>30</sup>

Angiogenesis adalah proses pertumbuhan pembuluh darah baru yang disebut neovaskularisasi, terjadi bersamaan dengan fibroplasia dan saling bergantung satu sama lain. Neovaskularisasi ke daerah luka yang mencapai puncak pembentukannya pada hari ke 3-5 setelah terjadinya luka dan perlahan jumlahnya akan menurun sekitar hari ke-7. Kolagen dan matriks ekstraselular yang terbentuk harus selalu mendapat oksigen dan nutrien agar proses metabolik dapat berlangsung. Neovaskularisasi berfungsi sebagai sarana untuk memenuhi kebutuhan penting ini.<sup>31</sup>

Peningkatan jumlah sel fibroblast pada jaringan yang mengalami luka, atau sering disebut fibroplasia, juga merupakan proses yang sangat penting, dimana terjadi pembentukan jaringan granulasi dan penyusunan kembali matriks dermal. Fibroblas bermigrasi ke dalam luka; memproduksi sejumlah besar kolagen, proteoglikan, elastin, dan protein matriks lain; serta berpartisipasi pada kontraksi luka.<sup>24</sup>

Fibroblas itu sendiri berbentuk fusiformis diantara serabut-serabut jaringan, memiliki tonjolan-tonjolan sitoplasma yang tidak teratur, inti bulat telur, besar, kromatin halus, dan memiliki nukleus yang jelas. Pada jaringan ikat longgar dijumpai berbentuk bintang atau stelata sebagai akibat serabut-serabut jaringan ikat yang tidak teratur. Fibroblas memiliki banyak mikrofilamen proaktin serta mikrotubul. Dilain pihak, proses epitelisasi menunjukkan secara langsung fenotip proses penyembuhan luka. Epitelisasi dimulai beberapa jam setelah jaringan terluka. Proses ini dimulai dari pinggir luka dan akhirnya akan membentuk barier yang menutupi seluruh permukaan luka. Migrasi keratinosit berperan pada pelapisan kembali defek epidermal. Pada peristiwa ini keratinosit berubah bentuk, sikloskeleton tersusun kembali, serta ekspresi keratin dan protease. Selanjutnya bersama-sama dengan kolagen pembentukan lapisan dermis semakin berkualitas dengan mengatur keseimbangan jaringan granulasi dan dermis.<sup>24,27</sup>

## II.3 FIBROBLAS

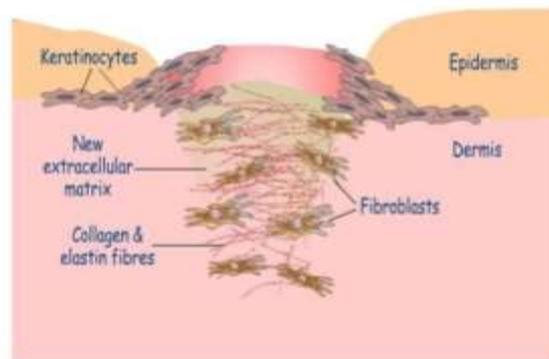
Sel fibroblas (L. fibra, serat: Yunani. blatos, benih: Latin) merupakan sel yang paling umum ditemui pada jaringan ikat dan mensintesis beberapa komponen matriks ekstraseluler (kolagen, elastin, retikuler), beberapa makromolekul anionik (glikosaminoglikans, proteoglikans) serta glikoprotein multiadhesiv, laminin, dan fibronectin) yang dapat mendorong perlekatan sel pada substrat. Di samping itu, sel fibroblas mensekresikan sitokin dan beberapa faktor pertumbuhan (*growth factors*) diantaranya dapat menstimulasi proliferasi sel dan menghambat proses diferensiasi.<sup>21</sup>

Kultur in vitro sel-sel fibroblas dilaporkan mensekresikan sekitar 175 jenis protein, diantaranya adalah beberapa faktor yang mampu menghambat diferensiasi sel seperti *basic fibroblast growth factor* (bFGF/FGF2).<sup>21,32</sup>

Fibroblas mempunyai 2 (dua) tahap aktivitas yaitu: aktif dan tenang. Sel-sel dengan aktivitas sintesis yang tinggi secara morfologis berbeda dari fibroblas tenang, yang tersebar dalam matriks yang telah disintesis sel-sel tersebut. Fibroblas pada saat sedang aktif menghasilkan substansi internal, sel ini memiliki juluran sitoplasma lebar atau tampak berbentuk kumpanan. Sitoplasmanya yang banyak bersifat basofil dan anak intinya sangat jelas, yang menandakan adanya sintesis protein secara aktif.<sup>21,32</sup>

Fibroblas merupakan sel induk yang berperan membentuk dan meletakkan serat-serat dalam matriks, terutama serat kolagen (Gambar 2.5). Sel ini mensekresi molekul tropokolagen kecil yang bergabung dalam

substansi dasar membentuk serat kolagen. Kolagen akan memberikan kekuatan dan integritas pada semua luka yang menyembuh dengan baik.<sup>21,32</sup>



Gambar 2.5 Peran Fibroblas dalam Membentuk dan Meletakkan Serat-serat dalam Matriks, Terutama Serat Kolagen. (Sumber: Darby IA, Laverdet B. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. Clin Cosmet Investig Dermatol. 2014;7:301–11. <https://dx.doi.org/10.2147%2FCCID.S50046>)

Pada orang dewasa, fibroblas dalam jaringan mengalami perubahan. Mitosis hanya tampak jika organisme memerlukan fibroblas tambahan, yaitu jika jaringan ikat cedera. Fibroblas lebih aktif mensintesis komponen matriks sebagai respon terhadap luka dengan berproliferasi dan peningkatan fibrinogenesis. Oleh sebab itu, fibroblas menjadi agen utama dalam proses penyembuhan luka.<sup>21,33</sup>

Secara struktural jaringan ikat terdiri dari 3 komponen yaitu sel-sel jaringan ikat (salah satunya fibroblas), serabut jaringan ikat, dan bahan dasar. Sel-sel pembentuk jaringan ikat ialah fibroblas, makrofag, sel mast, leukosit, sel plasma, sel lemak, sel pigmen, dan sel mesenkim.<sup>24</sup>

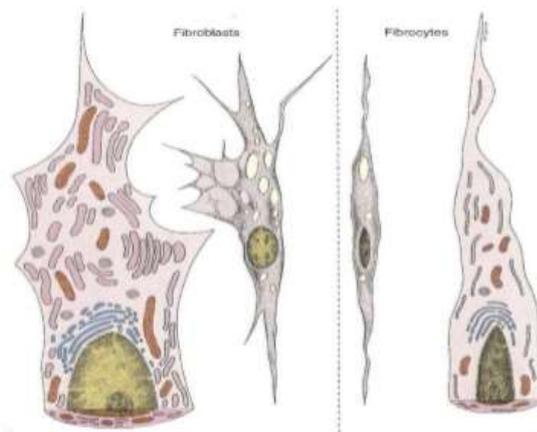
Fungsi utama fibroblas adalah pembentuk substansi dasar dan serabut kolagen. Serabut jaringan ikat tersusun dari matriks-matriks, serat-serat yang di hasilkan oleh fibroblas dan di temukan di dalam matriks ialah:

1. Serat Kolagen, terdiri dari sejumlah berkas fibril paralel. Secara kimia serat ini tersusun dari protein kolagen. Serat yang segar berwarna putih, lebar, dan kuat.
2. Serat Elastik, Serat elastik terbentuk secara tunggal (tidak dalam berkas) dan secara kimia tersusun dari protein elastin. Warnanya kuning, lebih besar namun jauh lebih tipis dari serat kolagen, dan tidak terlalu kuat namun memiliki tingkat elastisitas yang besar.
3. Serat Retikular, Serat retikular terdiri dari kolagen, tetapi berbeda jumlah, diameter, dan susunan fibrilnya. Serat ini tipis, tidak elastis, dan bercabang untuk membentuk suatu jaringan yang baik, atau retikulum, untuk menyangga organ lunak seperti hati dan limpa. Oleh karena itu sel fibroblas sangat berperan dalam pembentukan jaringan ikat.<sup>24</sup>

Sel jaringan ikat yang menyusun dan membentuk jaringan ikat memiliki 2 tipe yaitu tipe tetap (*resident type/ fixed cells*) dan tipe transient (*wandering cells*). Sel fibroblas termasuk kedalam tipe tetap, dikarenakan fibroblas berperan penting dalam pembentukan serabut jaringan ikat seperti yang telah dikatakan sebelumnya, dan memproduksi makro molekul (*glycosaminoglycan dan proteoglycan*) yang juga merupakan komponen bahan dasar jaringan ikat. Alasan lain yang membuat fibroblas menjadi tipe tetap ialah, sel tersebut relatif stabil dan jarang mengalami pergerakan.<sup>24</sup>

### II.3.1 Struktur Mikroskopik Fibroblas

Fibroblas adalah sel yang menghasilkan komponen ekstrasel dari jaringan ikat yang berkembang. Bila mereka menjadi relatif tidak aktif dalam membuat serat, ahli histologi menyebutnya sebagai fibrosit. Namun, karena sel-sel ini berpotensi untuk fibrogenesis dalam jaringan ikat diam dewasa selama perkembangannya maka digunakanlah istilah fibroblas. Bentuk sel ini tergantung pada sebagian besar substratnya (gambar 2.6).<sup>33,34</sup>



Gambar 2.6. Penampang Sel Fibroblas dan Fibrosit. (Sumber: Darby IA, Laverdet B. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. Clin Cosmet Investig Dermatol. 2014;7:301–11. <https://dx.doi.org/10.2147%2FCCID.S50046>)

Fibroblas merupakan sel besar, gepeng, bercabang-cabang, dari samping terlihat berbentuk fusiform. Cabang-cabangnya berbentuk langsing. Pada jaringan ikat yang direntangkan inti fibroblas tampak pucat; pada sajian irisan, fibroblas terlihat mengkerut dan terpulas gelap dengan pewarnaan basa. Pada kebanyakan sediaan histologi, batas sel tidak nyata dan ciri inti merupakan pedoman untuk mengenalnya. Inti lonjong atau

memanjang dan diliputi membran inti halus dengan satu atau dua anak inti jelas, dan sedikit granula kromatin halus. Sel biasanya tersebar sepanjang berkas serat kolagen dan tampak dalam sediaan sebagai sel fusiform dengan ujung-ujung meruncing. Dalam beberapa situasi, fibroblas ditemukan dalam bentuk stelata gepeng dengan beberapa cabang langsing. Inti panjangnya terlihat jelas, namun garis bentuk selnya mungkin sukar dilihat pada sediaan histologis karena bila relatif tidak aktif, sitoplasmanya eosinofilik seperti serat kolagen di sebelahnya.<sup>34,35</sup>

Sel Fibrosit merupakan sel yang paling sering di temui pada jaringan ikat. Sel Fibrosit bersifat heterokromatik dan hanya di kelilingi oleh sedikit sitoplasma berwarna pucat. Pengamatan sel fibrosit dengan menggunakan mikroskop elektron memperlihatkan jumlah retikulum endoplasma kasar (REK) yang sedikit, dengan kompleks golgi yang kecil.<sup>24</sup>

Sedangkan sel fibroblas berukuran sedikit lebih besar di bandingkan sel fibrosit dengan inti yang bersifat eukromatik. Sitoplasmanya berbentuk irregular dengan beberapa penjuruan. Pada pengamatan dengan mikroskop elektron akan terlihat REK dalam jumlah banyak dan kompleks golgi yang besar pada sitoplasma. Struktur ini mengindikasikan produksi matriks jaringan ikat lebih banyak di banding fibrosit. Sel fibroblas dapat berkembang langsung dari sel mesenkim yang belum berdiferensiasi atau dapat juga berasal dari sel fibrosit tergantung pada pengaruh faktor lingkungan. Sel fibroblas juga mampu mensintesis protein seperti kolagen

dan elastin yang akan membentuk serat yang dibutuhkan dalam pembentukan serabut ikat.<sup>24</sup>

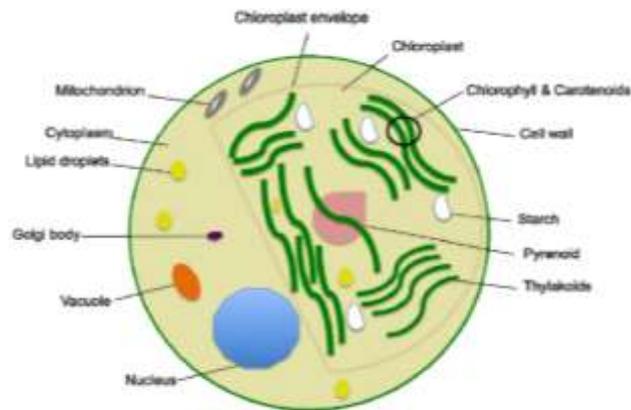
Fungsi kolagen yang lebih spesifik adalah membentuk cikal bakal jaringan baru (connective tissue matrix) dan dengan dikeluarkannya substrat oleh fibroblas, memberikan tanda bahwa makrofag, pembuluh darah baru dan juga fibroblas sebagai satu kesatuan unit dapat memasuki kawasan luka.<sup>24</sup>

#### **II.4. *Chlorella Vulgaris***

*Chlorella vulgaris* merupakan mikroorganisme yang fotosintesis dan eukariotik yang berasal dari keluarga chlorellaceae. Mikroorganisme ini adalah mikroalga hijau yang uniseluler dan berdiameter 2-10 micrometers.<sup>36</sup>

*Chlorella vulgaris* merupakan mikroalga hijau jenis klorofita atau alga hijau. Pada umumnya alga hijau memiliki biopigmen yang digunakan untuk berfotosintesis yaitu klorofil disamping adanya biopigmen karotenoid (karoten dan xantofil). Alga hijau didominasi warna hijau karena berasal dari pigmen klorofil a dan klorofil b.<sup>37</sup>

Struktur *Chlorella* sp dapat dilihat pada Gambar 2.7.<sup>4,37</sup>



Gambar 2.7. Struktur *Chlorella* sp. (Sumber: Zebib B, Merah O. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. Elsevier. 2014;35:265–78. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>)

Adapun taksonomi *Chlorella vulgaris* adalah:<sup>5,39</sup>

Tabel 2.1. Taksonomi *Chlorella vulgaris*.

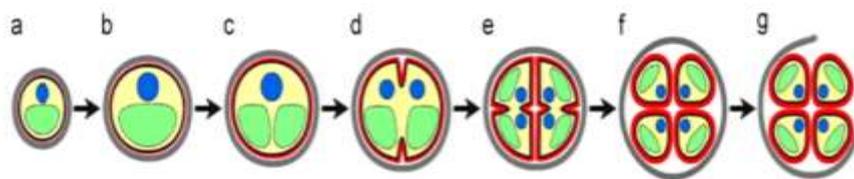
Mikroalga	<i>Chlorella vulgaris</i>
Empire	Eukaryota
Kingdom	Plantae
Phylum	Chlorophyta
Class	Trebouxiophyceae
Order	Chlorellales
Family	Chlorellaceae
Genus	Chlorella

(Sumber: Blinová L, Bartošová A, Gerulová K. Cultivation Of Microalgae (*Chlorella Vulgaris*) For Biodiesel Production. Fac Mater Sci Technol TRNAVA. 2015;23(36):87–95. <http://10.1515/rput-2015-0010>)

*Chlorella vulgaris* hidup secara berkoloni dalam jumlah besar, terutama pada tempat lembab dan berair. Bahkan beberapa jenis

*Chlorella vulgaris* bersimbiosis dengan jamur membentuk lumut kerak (*Lichenes*) atau hidup di antara jaringan *Hydra*.<sup>37</sup>

Mikroorganisme ini bereproduksi secara aseksual, induk sel menghasilkan empat anak sel, sehingga tingkat pertumbuhannya sangat tinggi.<sup>38</sup>



Gambar 2.8. Fase reproduksi *Chlorella vulgaris* (Sumber: Zebib B, Merah O. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. Elsevier. 2014;35:265–78. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>)

Pertumbuhan metabolisme *Chlorella vulgaris* memiliki 4 tipe kategori, autotropik, heterotropik, miksotropik, dan fotoheterotropik. Karakteristik dari autotropik menggunakan sumber karbon anorganik berupa karbon dioksida, bikarbonat, dan cahaya sebagai sumber untuk berfotosintesis. Metabolisme ini memiliki dua kategori yaitu close system dan open system. Pertumbuhan autotropik dengan open system merupakan cara yang paling sering dan mudah untuk menghasilkan biomassa dalam jumlah yang besar meliputi sumber air alami (seperti danau) dan sumber air artifisial (kolam). Kedalam kolam yang optimal sebaiknya 15 – 50 cm sehingga cahaya dapat mencapai seluruh lingkungan tumbuh *Chlorella vulgaris*. Pengolahan microalgae dengan

close system menggunakan beberapa tipe foto bioreactor seperti tubular, airlift, bubble coloumn dan photobioreactor.<sup>38</sup>

#### **II.4.1 Kandungan *Chlorella vulgaris***

Kandungan utama dari *Chlorella vulgaris* diantara lain adalah:

##### **1. Protein**

Protein adalah komposisi yang paling penting dalam ikatan kimia dan komposisi dari mikroalgae. Protein sendiri memiliki peran penting dalam pertumbuhan, perbaikan dan pemeliharaan sel. Total protein dalam *Chlorella vulgaris* 42-58% dalam berat biomassa kering dan bervariasi sesuai dengan kondisi pertumbuhan. Protein juga memiliki banyak peran dan hampir terlibat dalam peran penting seperti pertumbuhan, perbaikan dan pemeliharaan dari sel juga sebagai penggerak seluler, pembawa pesan kimia, regulator dari aktifitas sel dan pertahanan terhadap benda asing dari luar. Jumlah protein secara keseluruhan pada *Chlorella vulgaris* dewasa sebanyak 42-58% dari berat biomassa kering, dan bervariasi berdasarkan kondisi pertumbuhannya. Protein memiliki banyak peran dan hampir 20% dari total protein terikat dalam dinding sel, 50% berada dalam dinding sel dan 30% bergerak dalam dan keluar sel.<sup>38</sup>

## 2. Lemak

Dalam kondisi pertumbuhan yang optimal *Chlorella vulgaris* dapat mencapai 5-40% lemak per berat biomassa kering dan terutama terdiri dari glikolipid, wax, hidrokarbon, phospholipid, dan sedikit asam lemak bebas. Kloroplast bertugas dalam mensintesis komponen tersebut dan berada pada dinding sel dan membran dari organel (kloroplas dan membrane mitokondria).<sup>40</sup>

## 3. Karbohidrat

Karbohidrat mewakili sekelompok gula dan polisakarida seperti pati dan selulosa. komposisi sugar pada dinding sel adalah campuran dari rhamnose, galaktose, glukosa, xylose, arabinose dan mannose. Rhamnose menjadu gula yang dominan. Pati merupakan polisakarida yang paling banyak pada *Chlorella vulgaris* dan biasanya terletak di kloroplast. Selulosa adalah polisakarida structural dengan resistensi tinggi dan berada pada dinding sel *Chlorella vulgaris* sebagai barier fibrosa protektif.<sup>5,38</sup>

## 4. Pigmen

### a) Klorofil

Klorofil adalah pigmen yang banyak pada *Chlorella vulgaris*. Dapat mencapai 1-2% dari berat kering dan terletak pada tilakoid. Selain klorofil juga terdapat sejumlah karetenoid yang memiliki peran penting sebagai pigmen aksesoris dalam menangkap cahaya. Pigmen ini memiliki sifat traupetik seperti

antioksidan, regulasi kolestrol darah, efektif melawan degenerasi retina, mencegah dari penyakit kronik seperti kardiovaskular dan kanker usus dan membentengi sistem imun.<sup>38</sup>

Klorofil merupakan derivat lipid yaitu produk yang dihasilkan oleh organisme maupun mikroorganisme yang aktif berfotosintesis. Klorofil dan karotenoid saling bersinambung dalam melakukan proses fotosintesis pada mikroalga.<sup>12</sup> Pada chlorella, klorofil yang dihasilkan ada lima yaitu klorofil a, b, c, d, dan e. Klorofil yang terkandung dalam Chlorella memiliki konsentrasi 0,05 - 0,5% dapat menginvasi dan memperbanyak fibroblas yang berguna dalam proses penyembuhan luka. Fibroblas akan menghasilkan kolagen yang membentuk sebagian dari jaringan granulasi yang terbentuk di daerah terjadinya luka.<sup>6</sup>

#### b) Karotenoid

Karotenoid memberikan kontribusi yang besar bagi berbagai sektor kehidupan terutama sebagai sumber vitamin A yang bermanfaat bagi organ visual, pewarna makanan, bahan aditif pada makanan, penambah sel darah merah, antioksidan, antibakteria, meningkatkan imunitas, serta pengganti sel-sel yang rusak.<sup>41</sup>

Karotenoid merupakan derivat lipid yang dihasilkan secara *de novo* oleh organisme fotosintetik. Kebanyakan ganggang hijau mempunyai komposisi karotenoid yang menyerupai tumbuhan tingkat tinggi. Karotenoid yang dominan antara lain  $\beta,\beta$ -karotena dan  $\beta,\epsilon$ -karotena, lutein, zeaxantin, astaxantin, dan neoxantin. Karotenoid dari *Chlorella vulgaris* hampir seluruhnya terdiri dari lutein.<sup>41</sup>

c) *Chlorella Growth Factor* (CGF)

*Chlorella* sp menghasilkan senyawa bioaktif intrasel yang mampu menstimulasi pertumbuhan yang dikenal dengan istilah *Chlorella Growth Factor* (CGF). Senyawa bioaktif tersebut terdiri dari senyawa pemacu pertumbuhan ekstrasel dan intrasel. Substansi yang terkandung dalam CGF meliputi berbagai unsur gizi seperti asam amino, gula, vitamin, mineral, dan asam nukleat.<sup>42</sup>

5. Mineral dan vitamin

- a) Mineral yang terkandung dalam *Chlorella vulgaris* terbagi menjadi yaitu Mikroelemen: Na, K, Ca, Mg, P dan Makroelemen : Cr, Cu, Zn, Mn, Se, I, Fe.

Tabel 2.2: Kandungan Mineral pada *Chlorella vulgaris*

Minerals	Mineral content (g 100 g <sup>-1</sup> )		
	Maruyama et al. [203]	Tokusoglu and Unal [197]	Panahi et al. [198]
<b>Microelements</b>			
Na	N/A	1.35	N/A
K	1.13	0.05	2.15
Ca	0.16	0.59	0.27
Mg	0.36	0.34	0.44
P	N/A	1.76	0.96
<b>Macroelements</b>			
Cr	N/A	tr	tr
Cu	N/A	tr	0.19
Zn	N/A	tr	0.55
Mn	N/A	tr	0.40
Se	N/A	tr	N/A
I	N/A	N/A	0.13
Fe	0.20	0.26	0.68

(Sumber: Machmud E. *Chlorella Vulgaris*. 1st ed. Makassar: Masagena Press; 2019.)

b) Vitamin yang terkandung dalam *Chlorella vulgaris* yaitu :

Tabel 2.3: Kandungan Vitamin pada *Chlorella vulgaris*

Vitamins	Content (mg 100 g <sup>-1</sup> )		
	Maruyama et al. [203]	Yeh et al. [114]	Panahi et al. [198]
B1 (Thiamine)	2.4	N/A	1.5
B2 (Riboflavin)	6.0	N/A	4.8
B3 (Niacin)	N/A	N/A	23.8
B5 (Pantothenic acid)	N/A	N/A	1.3
B6 (Pyridoxine)	1.0	N/A	1.7
B7 (Biotin)	N/A	N/A	191.6
B9 (Folic acid)	N/A	N/A	26.9
B12 (Cobalamin)	tr	N/A	125.9
C (Ascorbic acid)	100.0	39.0	15.6
E (Tocopherol)	20.0	2787.0	N/A
A (Retinol)	N/A	13.2	N/A

(Sumber: Machmud E. *Chlorella Vulgaris*. 1st ed. Makassar: Masagena Press; 2019.)

Berdasarkan penelitian dengan menggunakan teknik screening, menemukan bahwa *Chlorella vulgaris* mengandung beberapa senyawa yaitu: flavonoid, tannin,

senyawa fenol, terpenoid, cardiac glycosides, saponin, dan karbohidrat. Kandungan senyawa antimikroba di antaranya lakton, cyanogenicglycosides, senyawa sulfur, fenol, phenolicglycosides, saponin, dan fitolexin. Beberapa kandungan mineral pada *C. vulgaris* antara lain iodin, bromin, dan protein bioaktif.<sup>9</sup>

Tabel 2.4. Analisis komponen *Chlorella* kering per 100 gr

Komponen	Kandungan
Protein	53-66 g
Lemak	6-15 g
Karbohidrat	10-20 g
Klorofil	1500-3000 mg
Karotin	10-80 mg
Zat Besi	80-200 mg
Kalsium	60-160 mg
Magnesium	150-500 mg
Vitamin A	5000-45000 I.U.
Vitamin E	11-22 I.U.
Vitamin B1	1-3 mg
Vitamin B2	2,5-7 mg
Vitamin B3	15-30 mg
Vitamin B6	0,6-2 mg
Vitamin B12	0,02-0,05 mg
Vitamin C	15-70 mg
<i>Chlorella</i> Growth Factor	12000-26000 mg

(Sumber: Ferdi. Persembuhan Luka yang Ditetesi Ekstrak *Chlorella* (*Chlorella vulgaris*) pada Mencit. Institut Pertanian Bogor; 2006; p.1–48.)

#### II.4.2 Manfaat *Chlorella vulgaris* dalam kedokteran gigi

Pada penelitian sebelumnya menemukan sebuah produk berupa permen bebas gula yang yang diberikan ekstrak *Chlorella* dimana permen ini memiliki manfaat untuk kesehatan gigi dan mulut. Permen bebas gula ini dikombinasikan dengan *Chlorella* dapat menjadi solusi ekonomis untuk pencegahan infeksi atau penyakit gigi dan mulut dan untuk menjaga kebersihan gigi dan mulut, permen ini mudah untuk digunakan dalam segala

situasi sehingga memudahkan untuk menjaga kesehatan mulut sepanjang hari. Permen *Chlorella* bebas gula ini dapat memudahkan pemberian *Chlorella* pada daerah yang infeksi di dalam mulut sehingga dapat mengoptimalkan pengobatan, tidak seperti suplemen yang mengandung *Chlorella* yang harus ditelan.<sup>27</sup>

Ekstrak dari *Chlorella* memiliki kandungan antibakteri terhadap bakteri-bakteri seperti *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli* bakteri-bakteri ini merupakan bakteri yang terdapat pada karies gigi.<sup>27</sup>

## **II.5. Sediaan Krim**

### **II.5.1 Definisi**

Krim adalah bentuk sediaan setengah padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai dan mengandung air tidak kurang dari 60%. Istilah ini telah digunakan untuk sediaan setengah padat yang mempunyai konsistensi filtrat cair di formulasi sebagai emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air.<sup>43</sup>

### **II.5.2 Fungsi Krim**

Krim berfungsi sebagai bahan pembawa substansi obat untuk pengobatan kulit, sebagai bahan pelumas untuk kulit, dan sebagai pelindung untuk kulit yaitu mencegah kontak permukaan kulit dengan larutan berair dan ransangan kulit.<sup>44</sup> Sediaan krim juga dapat diaplikasikan pada kulit atau membran mukosa untuk pelindung, efek terapeutik, atau profilaksis yang tidak membutuhkan efek oklusif.<sup>45</sup>

### **II.5.3 Kualitas Dasar Krim**

Kualitas dasar krim, yaitu:<sup>44</sup>

1. Stabil. Stabil pada suhu kamar.
2. Lunak, yaitu semua zat dalam keadaan halus dan seluruh produk menjadi lunak dan homogen.
3. Mudah dipakai, umumnya krim tipe emulsi adalah yang paling mudah dipakai dan dihilangkan dari kulit.
4. Terdistribusi merata, obat harus terdispersi merata melalui dasar krim padat atau cair pada penggunaan.

### **II.6 Hewan Uji**

Babi adalah salah satu dari sekian banyak jenis ternak yang di kembang biakkan di dunia. Babi yang dipelihara saat ini nenek moyangnya berasal dari dua jenis babi liar yaitu *Sus vitatus* dan *Sus scropa*. Jenis *Sus vitatus* ini berasal dari Benua Asia yang meliputi India Timur, Asia Tenggara, dan China. Sedangkan *Sus scropa* berasal dari Benua Eropa. Domestikasi babi liar *Sus vitatus* di China di mulai sekitar tahun 4910 sebelum masehi, sedangkan domestikasi babi liar *Sus scropa* di Benua Eropa dilaksanakan pada tahun 800 tahun sebelum masehi. Babi adalah ternak monogastric dan bersifat prolific (banyak anak tiap kelahiran), pertumbuhannya cepat dan dalam umur enam bulan sudah dapat dipasarkan. Selain itu ternak babi efisien dalam mengkonversi berbagai sisa pertanian dan restoran menjadi daging.<sup>46</sup>

Babi menurut AKK (1883) di bagi menjadi 3 tipe yaitu babi tipe daging (meat type) seperti Hampshire, Poland Chine, Spotted Poland Chine,

Berkshire, Chester White, dan Duroc. Babi tipe lemak (lard type) seperti babi yang umum di pelihara di Indonesia yang kandungan lemak tubuhnya cukup tinggi seperti babi Bali. Babi tipe sedang (bacon type) seperti Yorkshire, Landrace, dan Tamworth. Karena pengaruh domestikasi, babi yang biasanya liar dan di pelihara tanpa kandang berubah menjadi hewan yang lebih jinak.<sup>46,47</sup>

Babi Landrace merupakan babi yang berasal dari Denmark, termasuk babi bacon type yang berkualitas tinggi. Babi Landrace sangat populer sehingga dikembangkan juga di Amerika Serikat, Australia, dan Indonesia, yakni American Landrace dan Australian Landrace. Babi ini berwarna putih, terkenal karena babi ini bertubuh panjang seperti busur, besar, lebar, bulu halus, dan juga kakinya panjang. Babi ini terkenal sangat profirik hingga kini babi ini juga yang terbukti paling banyak per kelahiran, serta presentase dagingnya tinggi. Tulang rusuknya 16-17 pasang dan sampai kini puting susu babi inilah yang terbanyak diantara bangsa babi unggul. Babi jantan dewasa bobot badannya dapat mencapai sekitar 320-410 kg dan bobot badan induk dapat mencapai 250-340 kg. Kelemahan babi ini adalah kaki belakang yang lemah terutama saat induk bunting, dan hasil daging yang pucat.<sup>46</sup>



Gambar 2.9 Jenis Babi Landrace. (Sumber: Dokumentasi Pribadi)

Babi terlahir dengan delapan gigi: insisivus ketiga pada gigi desidusi maksila dan kaninus. Gigi tersebut biasanya muncul dari gusi dan bisa mencederai ujung puting. Untuk alasan ini, maka gigi tersebut biasanya akan tergigit di 2-6 jam pertama kelahiran (kaninus akan menutup). Babi memiliki empat jenis gigi: insisivus, kaninus, premolar dan molar.<sup>46,48</sup>

Babi merupakan hewan omnivora, memiliki insisivus sederhana (haplodont) dan premolar dengan tuberkulum serta gigi molar (bunodont). Gigi tersebut, kecuali kaninus, merupakan jenis brachidont (Gigi dengan mahkota yang rendah/pendek contohnya pada gigi babi, anjing dan manusia) serta terdiri dari mahkota yang tampak, dan muncul di dalam mulut, akar, merupakan bagian yang terpendam dalam alveolus dental dan akan sedikit mengecil atau menyempit di area servikal antara mahkota dan akar, di mana ditahan oleh gusi.<sup>46,48</sup>

Gigi kaninus jenisnya hipsodont (Gigi yang memiliki mahkota yang tinggi/panjang contohnya pada gigi kuda), sifatnya lebih khusus

dibandingkan gigi brachydont. Mahkota dan servikal tidak dapat dibedakan dan hanya terdiri dari bagian utama dan akar. Bagian utama (body) merupakan bagian yang bebas, dan dasarnya dikelilingi oleh gusi dan merupakan bagian yang terpendam, yang biasanya panjang pada hewan yang muda. Mahkota yang lebar pada gigi premolar dan molar menunjukkan area tuberkel yang membulat, sehingga gigi tersebut merupakan alat yang ideal untuk mengunyah makanan, jenis gigi ini disebut bunodont (gigi yang memiliki tonjolan kecil). Dataran oklusal menunjukkan lengkung gigi atas atau maksila dan lengkung bawah atau mandibula. Gigi pada babi, begitupun pada gigi manusia, memiliki mahkota, servikal, akar dan kavitas pulpa serta alveolus radikular.

Babi sebagai mamalia lokal memiliki dua jenis gigi.<sup>46,48</sup>

- ✓ Gigi geligi primer, desidui, temporer. Terdiri dari 32 gigi, dan susunanya, yaitu: 2(Di3/3, Dc1/1, Dp4/4)
- ✓ Gigi geligi sekunder, permanen, tetap atau pengganti. Terdiri dari 44 gigi dengan susunan gigi, yaitu: 2(I3/3, C1/1, P4/4, M3/3)

Babi Landrace juga banyak digunakan untuk program persilangan babi-babi di daerah tropik, terutama di Asia Tenggara. Ciri-ciri babi Landrace adalah berwarna putih dengan bulu yang halus, badan panjang, kepala kecil agak panjang dengan telinga terkulai, kaki letaknya baik dan kuat, dengan paha yang bulat dan tumit yang kuat pula serta tebal lemaknya lebih tipis. Babi Landrace mempunyai karkas yang panjang, pahanya besar, daging di bawah dagu tebal dengan kaki yang pendek.

Budaarsa melaporkan bahwa babi Landrace menjadi pilihan pertama para peternak karena pertumbuhannya cepat, konversi makanan sangat bagus dan temperamennya jinak. Lebih lanjut dilaporkan bahwa babi Landrace yang diberi pakan komersial (ransum yang seimbang), maka penambahan berat badannya bisa mencapai 1 kg per hari dengan berat sapih pada umur 35 hari bisa mencapai 15 kg.<sup>46,47</sup>

## II.7. Etika Penelitian Menggunakan Hewan Coba

Russell dan Burch memopulerkan prinsip 3R yang terdiri atas Replacement, Reduction and Refinement. Pada buku *The Principles of Humane Experimental Technique* yang dipublikasi tahun 1959, penulis Russell dan Brunch merekomendasikan bahwa semua studi yang melibatkan hewan coba harus dievaluasi untuk melihat apakah prinsip 3R dapat diaplikasikan.

Prinsip 3R menurut Russell dan Burch adalah sebagai berikut: Replacement, Reduction dan Refinement.<sup>49</sup>

- Replacement Sering diartikan sebagai penggunaan sistem tidak-hidup (mati) sebagai alternatif, misalnya, sebuah model komputer atau manekin. Hal ini juga dapat berarti penggantian vertebrata menjadi invertebrata. Ini juga mencakup penggunaan kultur sel dan jaringan.
- Reduction berarti menurunkan jumlah hewan coba yang digunakan tanpa mengurangi informasi yang berguna. Hal ini mungkin dicapai

dengan mengurangi jumlah variabel melalui desain eksperimental yang baik, menggunakan statistik yang tepat, menggunakan genetik hewan yang homogen, dan memastikan bahwa kondisi eksperimen terkontrol dengan baik.

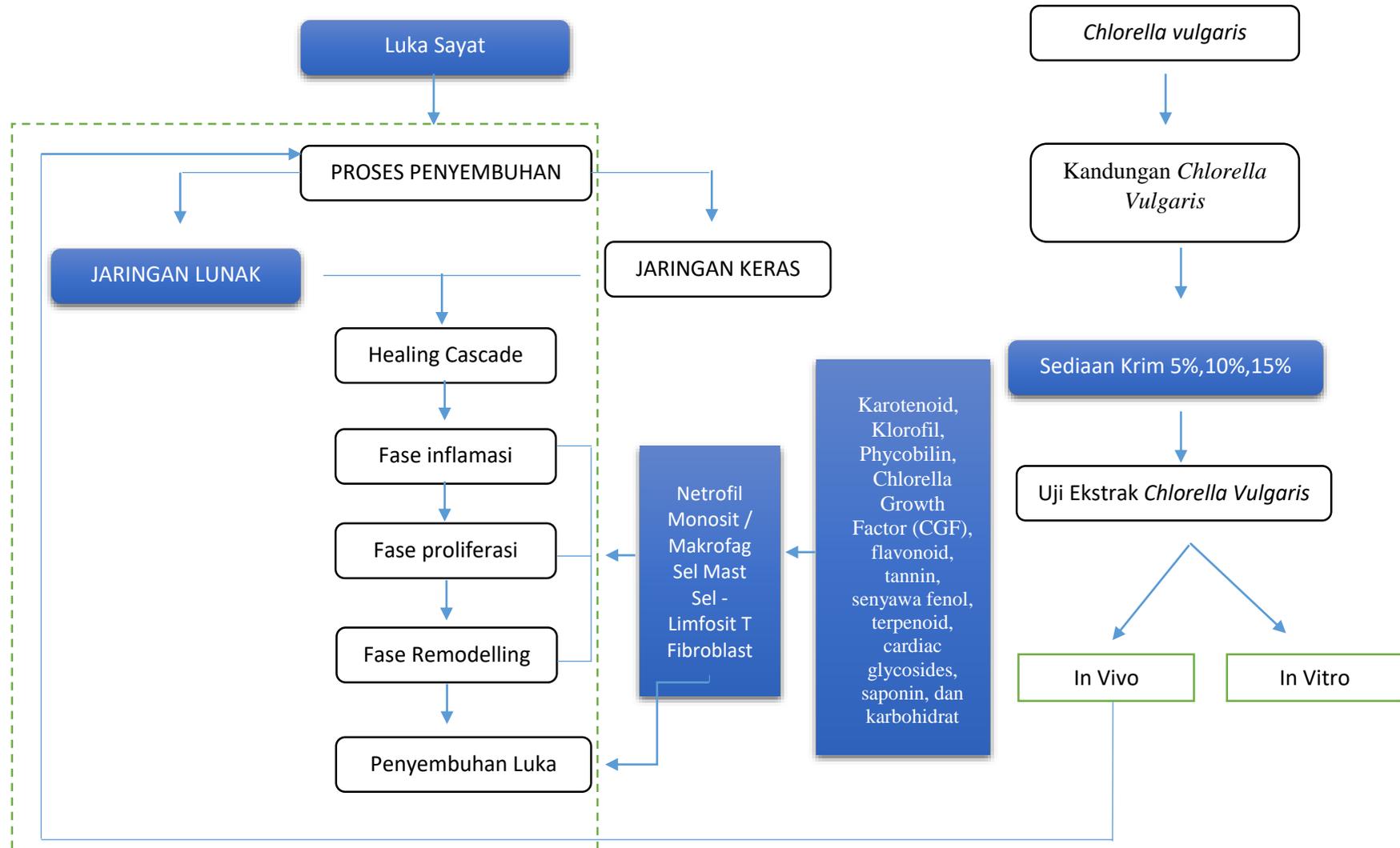
- Refinement berarti perubahan dalam beberapa aspek perlakuan yang berpotensi menimbulkan rasa sakit atau stres jangka panjang, memperlakukan hewan coba secara manusiawi (humane), dan memelihara hewan coba dengan baik sehingga menjamin kesejahteraan hewan coba hingga akhir studi (animal welfare).

Di samping itu, penelitian dengan menggunakan hewan coba harus memperhatikan aspek perlakuan yang manusiawi terhadap hewan-hewan tersebut, sesuai dengan prinsip 5F (Freedom) yang dikemukakan pada tahun 1979 oleh Farm Animal Welfare Council di Inggris untuk menjamin kesejahteraan hidup hewan coba (animal welfare). Prinsip 5F terdiri atas:

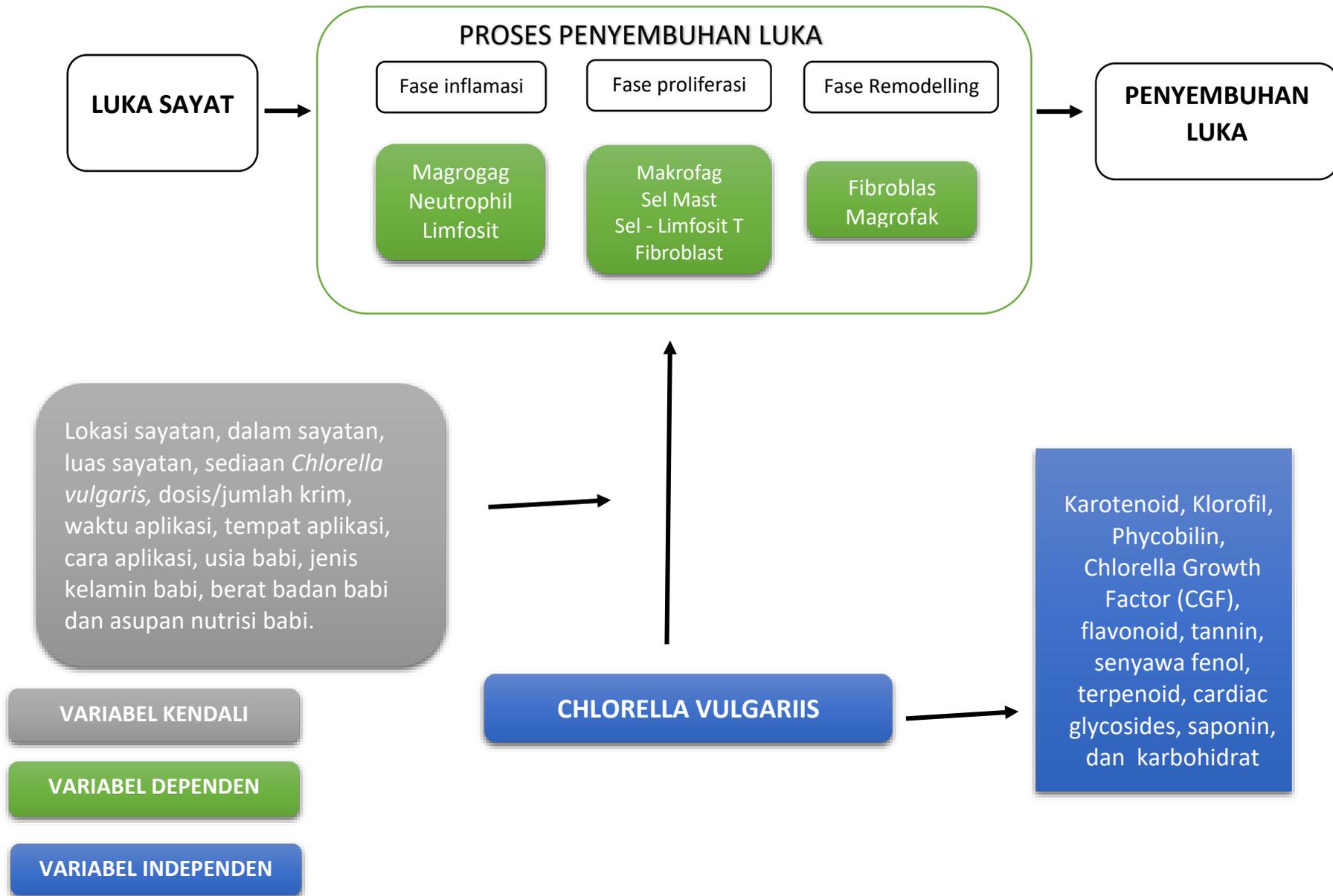
1. Freedom of hunger and thirst (bebas dari rasa lapar dan haus).
2. Freedom from discomfort (bebas dari rasa tidak nyaman).
3. Freedom of pain, injury or disease (bebas dari rasa nyeri, trauma, dan penyakit).
4. Freedom to fear and distress (bebas dari ketakutan dan stres jangka panjang).
5. Freedom to express natural behaviour (bebas mengekspresikan tingkah laku alami, diberikan ruang dan fasilitas yang sesuai).<sup>50</sup>

**BAB III**  
**KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

**III.1 Kerangka Teori**



### III.2. Kerangka Konsep



### III.3 Hipotesis Penelitian

- ✓ Krim ekstrak *Chlorella vulgaris* konsentrasi 10% merupakan konsentrasi krim yang terbaik dalam proses penyembuhan luka.
- ✓ Terjadi perubahan penyembuhan yang signifikan dari 3 *time periode* setelah pemberian krim ekstrak *Chlorella vulgaris*.

## **BAB IV**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **IV.1. Jenis dan Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan suatu penelitian eksperimental laboratoris dengan *True- Experimental Post Test Design with kontrol group*.

#### **IV.2. Lokasi dan Waktu penelitian**

##### **1. Lokasi Penelitian**

1. Laboratorium Biofarmaka Universitas Hasanuddin (untuk pembuatan sediaan *Chlorella Vulgaris* krim)
2. Klinik Sahabat Satwa SELEBES Veterinary Hospital, Jalan Nuri No. 39, Mattoanggin, Mariso, Kota Makassar, Sulawesi Selatan 90121.
3. Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit UNHAS (untuk pembuatan eparat histologi)
4. Peternakan Hewan Moncongloe Kabupaten Maros.

##### **2. Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan April-Desember 2019

#### **IV.3 Jumlah dan Kriteria Sampel Penelitian**

##### **1. Jumlah Sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah babi landrace jantan yang berumur tiga bulan, berat badan kurang lebih 30 kilogram yang diperoleh dari tempat pengembangbiakan hewan babi di Peternakan

Moncongloe Gowa. Jumlah sampel yang digunakan adalah 9 ekor babi landrace.

### **Perhitungan Besar Sampel**

Jumlah sampel akan dihitung menggunakan rumus Federer:

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

Keterangan:

n = jumlah sampel, t = jumlah kelompok

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

$$(n-1)(3-1) \geq 15$$

$$(n-1)2 \geq 15$$

$$2n-2 \geq 15$$

$$2n \geq 15+2$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 8,5$$

Atas dasar rumus di atas maka didapatkan besar sampel yang digunakan adalah minimal 8 sampel dan pada penelitian ini menggunakan sampel sebanyak 9 ekor babi.

## **2. Kriteria Sampel Penelitian**

Kriteria inklusi adalah:

- a. Babi jantan
- b. Usia 3 tahun

- c. Berat kurang lebih 30 kilogram
- d. Sehat dan aktif
- e. Tidak ada kelainan anatomi yang Nampak

Kriteria eksklusi:

- a. Babi dalam keadaan sakit
- b. Babi memiliki kelainan anatomi yang tampak
- c. Babi meninggal saat penelitian

#### **IV.4 Variabel penelitian**

Variabel Independen : Ekstrak *Chlorella Vulgaris* krim 5%, 10%, 15%

Variabel Dependen : Penyembuhan secara klinis dan jumlah sel fibroblas

Variabel Terkendali : Lokasi sayatan, dalam sayatan, luas sayatan, sediaan *Chlorella vulgaris*, dosis/jumlah krim, waktu aplikasi, tempat aplikasi, cara aplikasi, usia babi, jenis kelamin babi, berat badan babi dan asupan nutrisi babi.

#### **IV.5 Definisi Operasional**

1. *Chlorella vulgaris* adalah mikroalga yang termasuk dalam golongan alga hijau (Chlorophyta). Bentuk sel *Chlorella vulgaris* bulat, bulat lonjong dengan garis tengah sel antara 2-8 $\mu$ m, tergolong tumbuhan tingkat rendah berukuran 3-15 mikron dan banyak terdapat diperairan Indonesia. Mikroalga *Chlorella vulgaris* diambil dari Laut

di pantai Galesong dengan melakukan penyaringan dengan alat bernama planktonet hingga didapatkan sebanyak 75 gr. Setelah dilakukan pengambilan, kemudian di bawa ke laboratorium balai budidaya air payau Galesong untuk dilakukan pembuatan sediaan *Chlorella vulgaris* dalam bentuk bubuk.

2. Krim merupakan sediaan setengah padat yang berupa emulsi yang mengandung satu atau lebih bahan obat yang terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai dan mengandung air tidak kurang dari 60%.
3. Babi landrace jantan adalah ternak monogastrik dan bersifat prolifrik (banyak anak tiap kelahiran), pertumbuhannya cepat dan merupakan hewan omnivore. Babi yang digunakan adalah babi jantan dengan umur tiga tahun dengan berat 30 kg yang di ambil dari peternakan hewan Moncongloe Gowa.
4. Luka adalah terputusnya kontinuitas struktur anatomi jaringan tubuh yang bervariasi mulai dari yang paling sederhana seperti lapisan epitel dari kulit, sampai lapisan yang lebih dalam seperti jaringan subkutis, lemak dan otot bahkan tulang beserta struktur lainnya seperti tendon, pembuluh darah dan syaraf, sebagai akibat dari trauma atau rusak paksa atau trauma dari luar. Luka akan diberikan pada telinga babi landrace bagian luar sebelah kiri dengan ukuran 1x2 cm.

5. Sel Fibroblas adalah sel yang menyintesis matriks ekstraseluler dan kolagen, memproduksi kerangka struktural (stroma) jaringan hewan, serta berperan penting dalam penyembuhan luka. Fibroblas merupakan sel jaringan ikat paling umum pada hewan dan pemeriksaan fibroblast menggunakan mikroskop Olympus CX31 (Made in Japan) dengan pembesaran 40x perlapangan pandang, dapat dilihat melalui pewarnaan HE sebagai zona serabut berwarna merah.
6. Penyembuhan luka adalah respons pemulihan alami terhadap jaringan tubuh yang mengalami kerusakan (pengamatan makroskopis). Adapun parameter perubahan morfologi luka yaitu pertama, kelembapan luka merupakan tingkat kebasahan pada luka yang dapat diukur dengan melihat kandungan air yang mempengaruhi basah, lembab dan keringnya luka. Yang kedua warna luka merupakan kondisi permukaan luka yang dipengaruhi oleh kondisi vaskularisasi yang dapat berubah dari merah, merah pucat, merah kecoklatan dan akhirnya menjadi putih dan ketiga keropeng luka merupakan kerak atau kotoran yang mengering pada luka yang nampak berupa luka terbuka, berkeropeng, luka tertutup dan tumbuh rambut.

## **IV.6. Alat dan Bahan Penelitian**

### **Alat Penelitian**

*Blade dan Scalpel*, Gunting Jaringan, Pinset, Nanpan *Stainless steel*, Spoit 1 cc, Kamera DLSR Canon 600D, Mikroskop Olympus CX31 (Made in Japan).

### **Bahan Penelitian**

Kasa , kapas, povidine iodium, anestesi inhalasi (Zoetil 50 mg/ml dengan dosis per 12mg/kg) dan anestesi lokal (Lidokain 2%), Krim ekstrak *Chlorella vulgaris*, alkohol 70%, akuades steril, formalin 10%, Cotton Bud dan *Handscoon*.

## **IV.7 Prosedur Penelitian**

Semua prosedur yang akan dilakukan layak etik dan untuk *ethical clearance*, sesuai persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar Nomor: 0132/PL09/KEPK FKG-RSGM UNHAS/2019.

### **1. Pemeliharaan Hewan Coba**

Sebelum perlakuan, semua babi diadaptasikan dan dipelihara secara berkelompok (3 babi perkandang) dalam kandang hewan coba yang terbuat dari kayu. Adaptasi hewan dilakukan selama 7 hari sebelum perlakuan untuk mengkondisikan hewan dalam keadaan sehat.



Gambar 4.1 Tiga babi perkandung dalam kandang hewan coba yang terbuat dari kayu. (Sumber: Dokumentasi Pribadi)

## 2. Perlakuan Hewan Coba

Sebelum masuk dalam tahap pemberian luka sayat pada telinga babi terlebih dahulu dilakukan disinfeksi dengan betadine pada daerah yang akan dilakukan luka dan selanjutnya babi dianestesi inhalasi (Zoletil 50 mg/ml dengan dosis per 12 mg/kg) oleh dokter hewan.

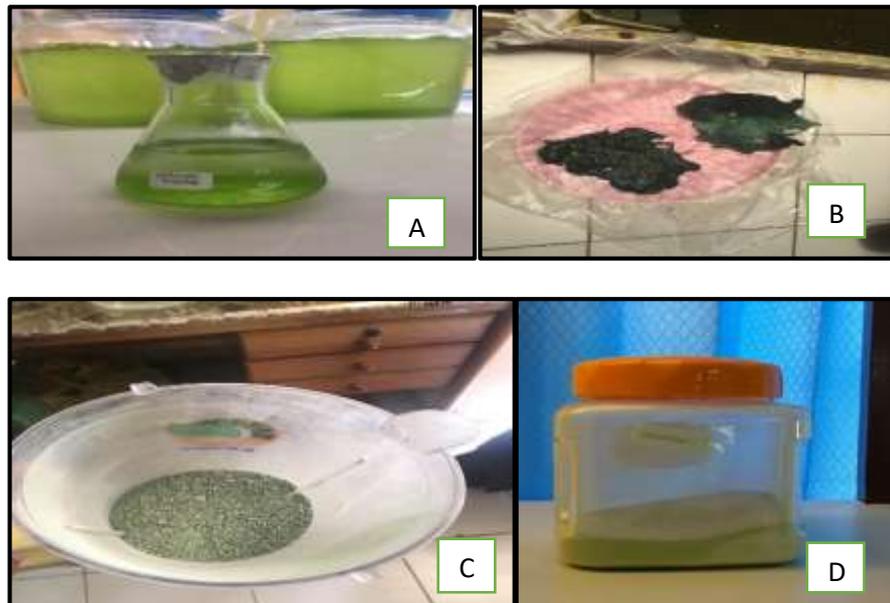
## 3. Pembuatan Ekstrak *Chlorella vulgaris*

1. Mikroalga *chlorella vulgaris* diambil dari Laut di pantai Galesong dengan melakukan penyaringan dengan alat bernama planktonet hingga didapatkan sebanyak 75 gr. Dilakukan pengkulturan pada bahan mikroalga *chlorella vulgaris* selama 7 hari pada tabung Erlenmeyer 200-300 ml. (gambar A)
2. Setelah 7 hari, kultur kemudian diberikan soda api yang telah diencerkan dengan air dengan tujuan untuk memisahkan air dengan fitoplankton. Setelah 15 menit akan terbentuk pengendapan, artinya

fitoplankton dan air telah terpisah. Air laut kemudian dibuang, endapan disaring dan dijemur dengan sinar matahari langsung selama 3 hari hingga berbentuk gel keras. (gambar B)

3. Gel tersebut kemudian diblender hingga halus dan kembali disaring untuk mendapatkan bubuk *chlorella vulgaris*. (gambar C)

4. Gel tersebut kemudian diblender hingga halus dan kembali disaring untuk mendapatkan bubuk *chlorella vulgaris* yang benar-benar halus. (gambar D)



Gambar 4.2 Pembuatan Ekstrak *Chlorella vulgaris* A Kultur 200 ml *chlorella vulgaris*, B. Hasil pengeringan dalam bentuk gel, C. gel yang diblender menjadi bubuk, D. Bubuk *chlorella vulgaris*. (Sumber: Dokumentasi Pribadi)

#### 4. Pembuatan sediaan krim 5%

1. Siapkan alat dan bahan untuk pembuatan basis krim. Alat berupa homogenizer, gelas kimia, kompor listrik, cawan porselen dan timbangan elektrik.

2. Timbang bahan-bahan berupa ekstrak *Chlorella vulgaris* 5 gr dan bahan lainnya seperti Asam Stearat 5%, Setil Alkohol 2%, Stearil Alkohol 1%, Propilenglikol 10%, Gliserol 5%, Isopropil Miristat 3%, Metil Paraben 0,12%, Propil Paraben 0,018%, Emulsifying Wax 10%, Air Suling 100 gr sesuai perhitungan lebur fase air dan fase minyak hingga suhu 70°C.
3. Tuangkan fase air ke fase minyak, kemudian aduk menggunakan homogenizer hingga homogen dan terbentuk basis cream.
4. Terakhir tambahkan ekstrak *Chlorella vulgaris* sedikit demi sedikit ke dalam basis, kemudian aduk dengan homogenizer hingga homogen.

#### **5. Pembuatan sediaan krim 10%**

1. Siapkan alat dan bahan untuk pembuatan basis krim. Alat berupa homogenizer, gelas kimia, kompor listrik, cawan porselen dan timbangan elektrik.
2. Timbang bahan-bahan berupa ekstrak *Chlorella vulgaris* 10 gr dan bahan lainnya seperti Asam Stearat 5%, Setil Alkohol 2%, Stearil Alkohol 1%, Propilenglikol 10%, Gliserol 5%, Isopropil Miristat 3%, Metil Paraben 0,12%, Propil Paraben 0,018%, Emulsifying Wax 10%, Air Suling 100 gr sesuai perhitungan lebur fase air dan fase minyak hingga suhu 70°C.
3. Tuangkan fase air ke fase minyak, kemudian aduk menggunakan homogenizer hingga homogen dan terbentuk basis cream.

4. Terakhir tambahkan ekstrak *Chlorella vulgaris* sedikit demi sedikit ke dalam basis, kemudian aduk dengan homogenizer hingga homogen.

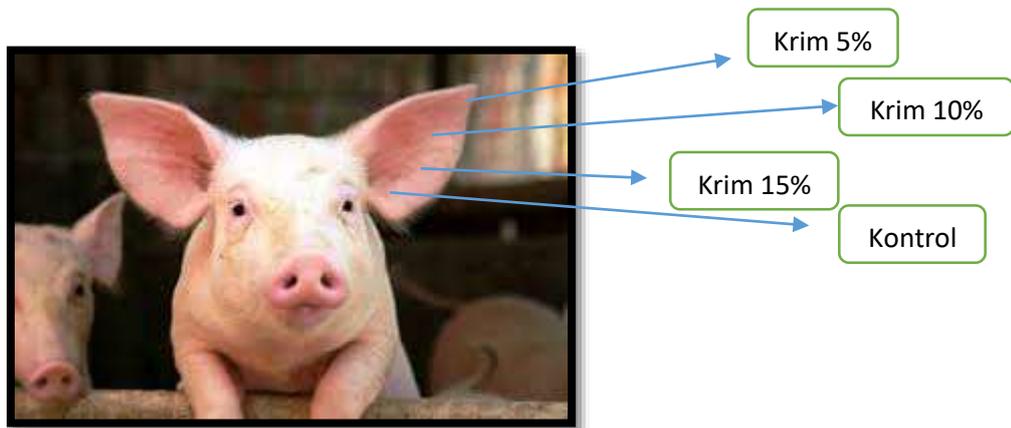
## **6. Pembuatan sediaan krim 15%**

1. Siapkan alat dan bahan untuk pembuatan basis krim. Alat berupa homogenizer, gelas kimia, kompor listrik, cawan porselen dan timbangan elektrik.
2. Timbang bahan-bahan berupa ekstrak *Chlorella vulgaris* 15 gr dan bahan lainnya seperti Asam Stearat 5%, Setil Alkohol 2%, Stearil Alkohol 1%, Propilenglikol 10%, Gliserol 5%, Isopropil Miristat 3%, Metil Paraben 0,12%, Propil Paraben 0,018%, Emulsifying Wax 10%, Air Suling 100 gr sesuai perhitungan lebur fase air dan fase minyak hingga suhu 70°C.
3. Tuangkan fase air ke fase minyak, kemudian aduk menggunakan homogenizer hingga homogen dan terbentuk basis cream.
4. Terakhir tambahkan ekstrak *Chlorella vulgaris* sedikit demi sedikit ke dalam basis, kemudian aduk dengan homogenizer hingga homogen.

## **7. Pembuatan luka sayat pada sampel**

- Operator menggunakan masker dan sarung tangan.
- Babi *Landrace* didesinfeksi daerah yang akan dilakukan pembuatan luka sayat dengan melakukan pencukuran bulu dilanjutkan dengan pemberian alkohol dan pengolesan povidine iodium.

- Memberi tanda ukuran sayatan menggunakan animal marker dengan ukuran 2cm x1cm dengan membuat 4 daerah perlukaan.
- Dengan menggunakan blade dilakukan incisi luka sayat pada masing masing daerah operasi yang telah diberi tanda dengan kedalaman 2-3 mm.
- Isolasi perdarahan.
- Melakukan aplikasi krim *Chlorella vulgaris* masing masing pada sayatan yaitu 5%, 10%, 15% dan tanpa aplikasi *Chlorella vulgaris* sebagai kelompok kontrol.



Gambar 4.3 Pembuatan luka sayat pada sampel (Sumber: Dokumentasi Pribadi)

- Pengolesan krim secara topikal pada luka sesuai dengan perlakuannya dengan menggunakan *cutton buds*, dilakukan aplikasi salep per 12 jam.
- Hewan coba dikembalikan ke kandang.

## 8. Pengamatan Penyembuhan luka

Pengamatan patologi anatomi dilakukan pada setiap perlakuan secara deskriptif metode scoring terhadap semua sampel. Kondisi luka diamati setiap hari pada hari ke-3, ke-7 dan hari ke-14 dengan memperhatikan parameter

perbandingan, yaitu klinis luka (kelembaban luka, warna luka, dan keropeng luka). Parameter perubahan klinis luka dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 4.1 Parameter perubahan morfologi luka

Morfologi Luka	Kategori	Skor
Kelembapan	Luka Basah	+3
	Luka Lembab	+2
	Luka Kering	+1
Warna Luka	Merah Segar	+4
	Merah Pucat	+3
	Merah Kecoklatan	+2
	Putih/Normal	+1
Keropeng Luka	Luka Terbuka	+4
	Berkeropeng	+3
	Luka Tertutup	+2
	Tumbuh Rambut	+1

(Sumber: Machmud E, Ruslin M, Waris R, Asse RA, Muamar A. Effect of the Application of *Chlorella Vulgaris* Ointment to the Number of Fibroblast Cells as an Indicator of Wound Healing in the Soft Tissue of Pig Ears. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*. 2020;1–10. <http://dx.doi.org/10.1590/pboci.2020.032>)

## 9. Pengambilan Kulit Telinga Babi

Pengambilan kulit telinga babi dilakukan setelah dilakukan anestesi lokal inhalasi dan anestesi local. Kulit digunting dengan mengikuti daerah luka.

Kulit yang diperoleh kemudian di fiksasi dengan larutan neutral buffer formalin 10% dibiarkan pada suhu kamar selama  $\pm$  48 jam.

#### 10. Euthanasi Pada Hewan Penelitian

Setelah pengambilan sampel, hewan penelitian dilakukan euthanasia karena:

- Pengambilan sampel menyebabkan nyeri hebat atau kronik, penderitaan dan rasa tidak enak pada hewan penelitian.
- Menyebabkan cacat yang tidak dapat disembuhkan.

### IV.8 Pembuatan Slide Histologi

#### Fiksasi Pembuatan Preparat Histologi

a. Fiksasi Sediaan kulit dimasukkan ke dalam kantong plastik berisi larutan Natural Buffer Formalin 10%. Fiksasi dilakukan selama 2 x 24 jam.

b. Penipisan (*Trimming*)

Sediaan kulit dipotong lebih tipis (tidak lebih dari 2,5mm) dengan menggunakan razor blade. Penipisan dilakukan dalam sekali gerakan memotong. Daerah yang diambil adalah luka pada bagian tengah dengan tetap menyertakan bagian epidermis sampai subkutan. Bagian luka dimasukkan ke dalam kaset. Tiap kaset berisi 3 sampel.

c. Dehidrasi

Sediaan kulit kemudian dimasukkan ke dalam gelas berturut-turut berisi alkohol 70% selama 2 jam, alkohol 80% selama 2 jam, alkohol 90% selama 2jam, alkohol 95% I selama 2 jam dan alkohol 95% II selama 2

jam kemudian dimasukkan kedalam alkohol 100% I selama 2 jam dan alkohol 100% II selama 2 jam.

d. Penjernihan (*Clearing*)

Sediaan kulit dimasukkan kedalam xylol dengan 2 kali pergantian masing-masing selama 2 jam.

e. Pencetakan (*Embedding*)

Sediaan dimasukkan ke dalam alat pencetak yang berisi parafin setengah volume dan sediaan diletakkan ke arah vertikal dan horizontal sehingga potongan melintang melekat pada dasar parafin. Setelah mulai membeku, parafin ditambahkan sampai pencetak penuh dan didiamkan kembali sampai mengeras. Setelah mengeras alat pencetak dapat dilepaskan, blok-blok parafin dimasukkan ke dalam lemari es.

f. Pengirisan dengan mikrotom

Sediaan diiris menggunakan mikrotom setebal 5 mikron (Gambar A). Hasil potongan dimasukkan ke dalam air hangat untuk meregangkan jaringan yang keriput pada suhu 45°C. Sediaan diangkat dari permukaan air dengan menggunakan gelas objek yang diletakkan di atasnya. Preparat ini didinginkan sebentar supaya kering, lalu diberi tanda dan disimpan dalam inkubator temperatur 60°C minimal 2 jam (Gambar B).

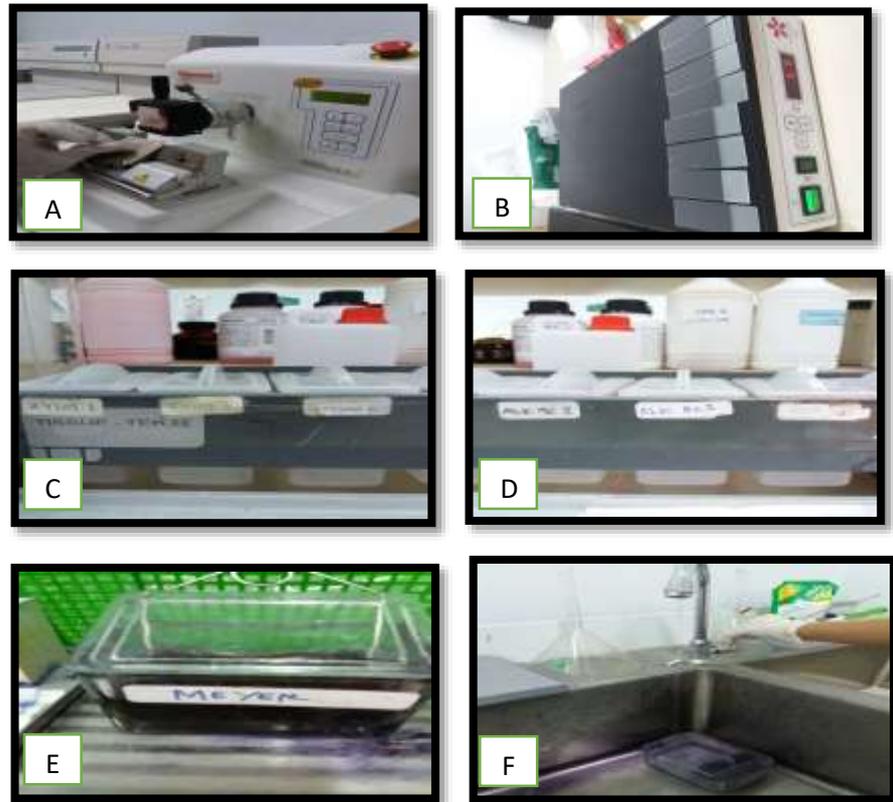
g. Prosedur pewarnaan Hematoksilin Eosin :

- Preparat direndam Xylol I, II, dan III masing-masing 5 menit (gambar C).

- Preparat direndam alkohol 100%, 95%, 80%, 70% masing-masing 5 menit.
- Preparat direndam air mengalir 5 menit (gambar D).
- Preparat direndam Meyer hematoksilin selama 7 menit (gambar E).
- Preparat diletakkan dalam wadah lalu dialiri air mengalir 5 menit (gambar F).
- Preparat dicelup-celup larutan eosin 10 detik.
- Preparat masuk ke dalam alcohol 70 %, 80%, 95%,100% 3 celup.
- dan tunggu sampai kering.
- Preparat masuk Ke Xylol I, dan II masing-masing 2 menit.
- Preparat diberi 1 tetes entelan dan ditutup objek glass.
- Preparat siap diamati dimikroskop.

#### h. Penutup sediaan

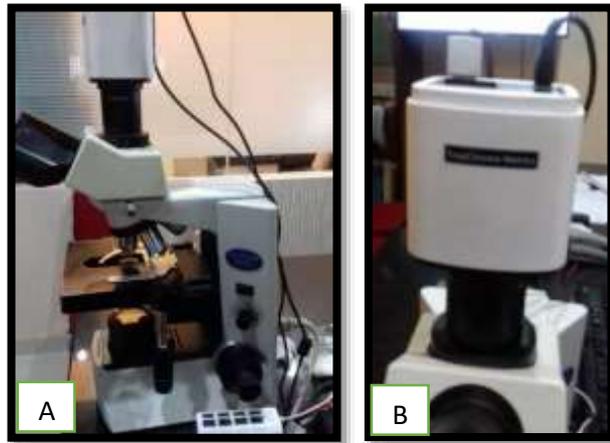
Preparat dikeringkan terlebih dahulu sebelum ditutup. Setelah itu ditetesi dengan menggunakan Canada balsam sebelum ditutup menggunakan gelas penutup. Canada balsam digunakan untuk merekatkan objek dengan slide dan gelas penutup. Tunggu sampai preparat kering dan diberikan label. Label dituliskan: Nama spesies, Nama organ / jaringan, potongan melintang / membujur, pewarnaan yang digunakan, tanggal pembuatan. Kemudian preparat dapat disimpan atau diamati di mikroskop.



Gambar 4.4 Pembuatan Slide Histologi A) Sediaan diiris menggunakan mikrotom setebal 5 mikron, B) Preparat Ini didinginkan, C) Preparat direndam Xylol I, II, dan III masing-masing 5 menit, D) Preparat direndam air mengalir 5 menit, E) Preparat direndam Meyer hematoksilin selama 7 menit, F) Preparat diletakkan dalam wadah lalu dialiri air mengalir 5 menit. (Sumber: Dokumentasi Pribadi)

#### IV.9 Pengamatan Histologi

Pengamatan histologi, seluruh sampel diamati dibawah mikroskop cahaya (Olympus CX31, Made in Japan) dengan pembesaran 40x perlapangan pandang. Pemeriksaan histologi meliputi pengamatan sel sel yang terdapat pada gambahan histologi luka sayat dan perhitungan jumlah sel fibroblast (pada pengamatan 40x). Perhitungan jumlah sel fibroblast dilakukan secara manual bersama dengan dokter patologi anatomi.

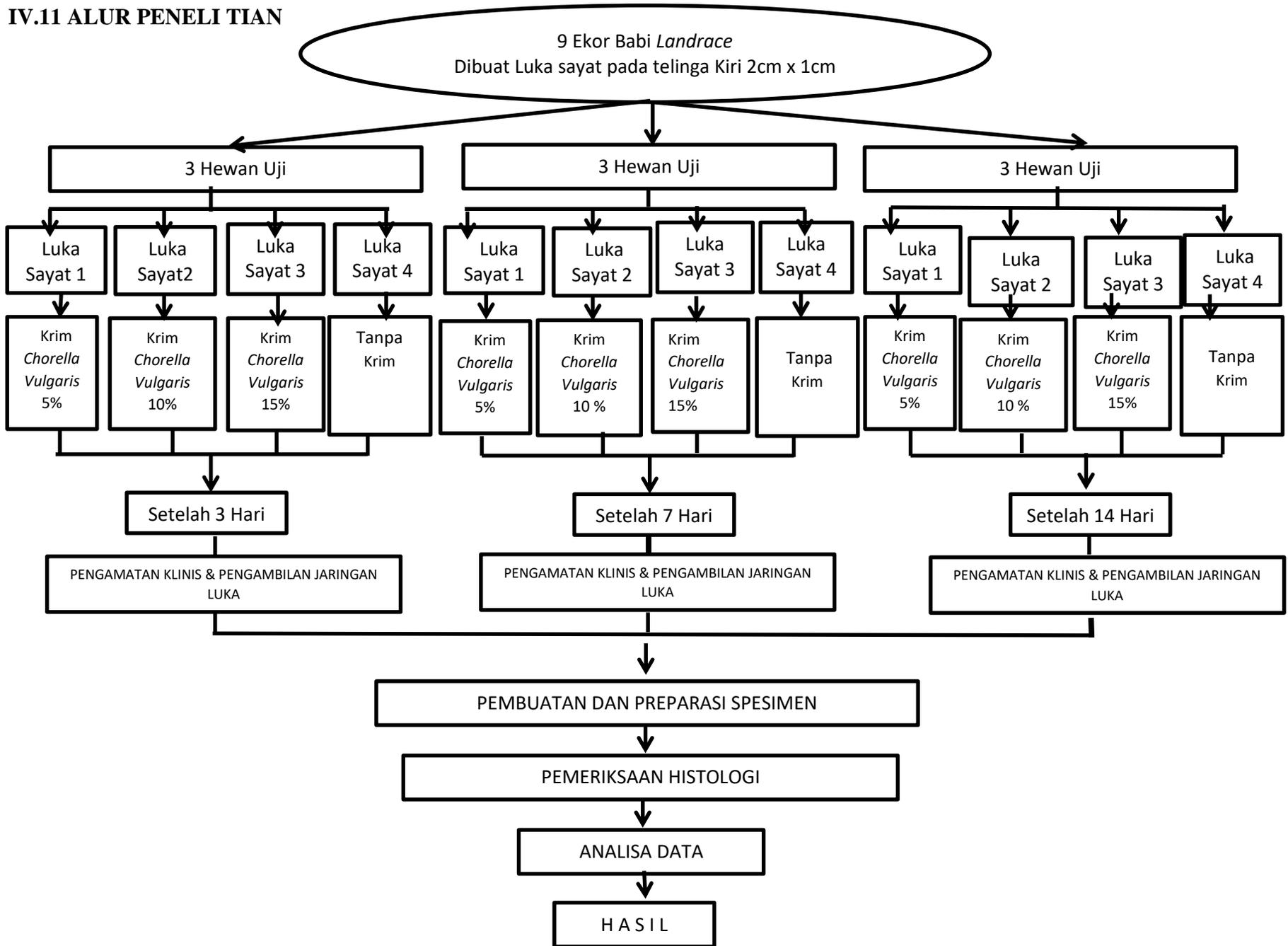


Gambar 4.5 A) Mikroskop cahaya (Olympus CX31, Made in Japan),  
B) Kamera trueChrome Metrics (Sumber: Dokemuntasi Pribadi)

#### **IV.10 Analisis Statistik**

Hasil perhitungan sel secara mikroskopis dianalisa dengan uji statistic Anova untuk melihat perbedaan rerata antar jenis perlakuan, distribusi sampel penelitian dan untuk mengetahui adanya perbedaan keadaan klinis antar kelompok perlakuan dan analisa Kruskal Wallis untuk menghitung jumlah sel fibroblas pada setiap kelompok perlakuan dan *time period*.

#### IV.11 ALUR PENELITIAN



## BAB V

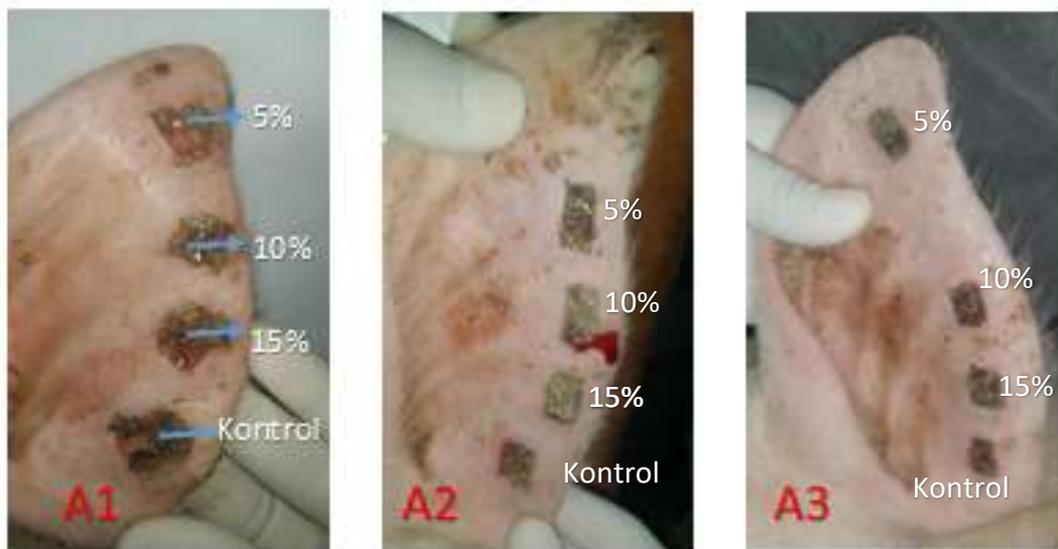
### HASIL PENELITIAN

Untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak krim *Chlorella vulgaris* secara topikal pada aktivitas sel fibroblast pada penyembuhan luka sayat telah dilakukan penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan desain *post test only kontrol group*.

#### 1. Pengamatan Klinis Pada Luka

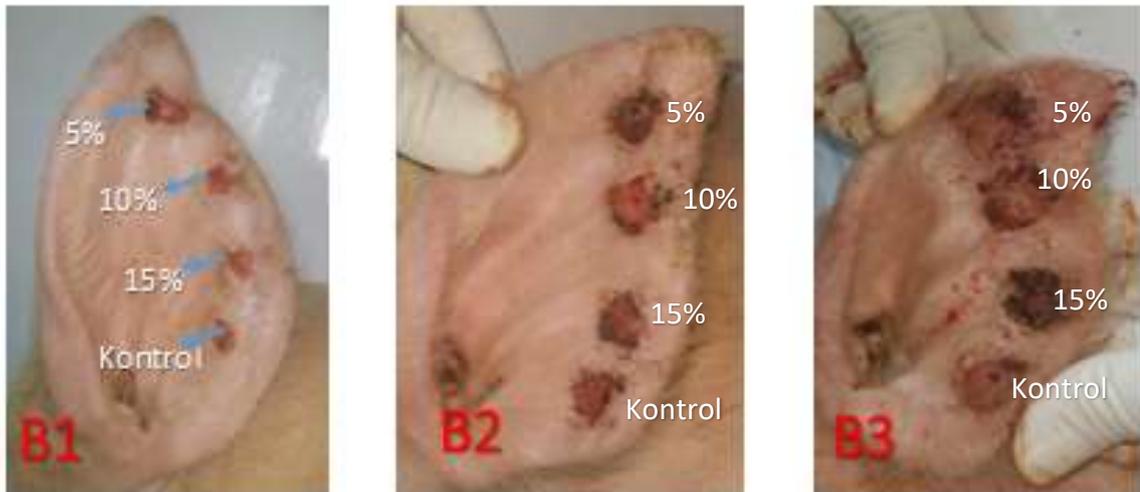
Untuk pengamatan klinis pada luka digunakan 3 parameter yang menjadi parameter penyembuhan luka, yaitu kelembaban luka, warna luka dan keropeng luka. Pengamatan dilakukan pada masing-masing hewan uji pada setiap *time periode* hari 3, 7 dan 14. Selanjutnya dibuat perbandingan antara ketiga *time periode* setiap presentase dan kelompok kontrol.

##### Foto kilis Hari ke-3



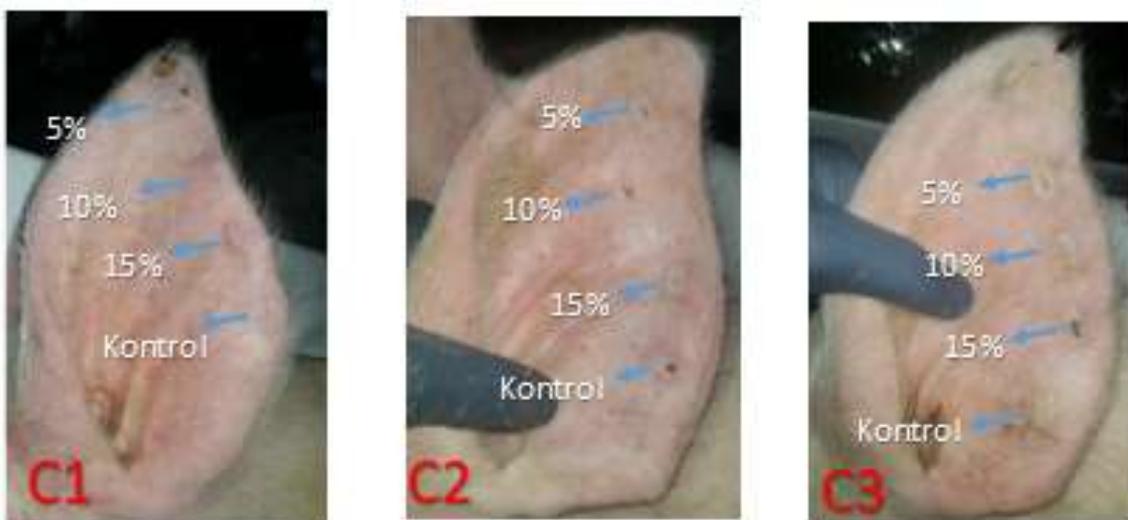
Gambar 5.1 Hasil pengamatan klinis luka hewan coba A1, A2 dan A3. Telinga kiri hewan coba hari ke-3 dengan aplikasi krim 5%, 10 %, 15 % dan kontrol pada kelompok perlakuan setiap hewan uji.

### Foto Klinis Hari Ke-7



Gambar 5.2 Hasil pengamatan klinis luka hewan coba B1, B2 dan B3. Telinga kiri hewan coba hari ke-7 dengan aplikasi krim 5%, 10 %, 15 % dan kontrol pada kelompok perlakuan setiap hewan uji.

### Foto Klinis Hari Ke-14



Gambar 5.3 Hasil pengamatan klinis luka hewan coba C1, C2 dan C3. Telinga kiri hewan coba hari ke-14 dengan aplikasi krim 5%, 10 %, 15 % dan kontrol pada kelompok perlakuan setiap hewan uji.

Tabel 5.1 Menunjukkan perbedaan kelembaban, warna luka, dan keropeng luka berdasarkan kelompok perlakuan pada 3 *time period*, 3 hari, 7 hari dan 14 hari

Kelompok		3 Hari			7 Hari			14 Hari		
		Kelembaban	Warna Luka	Keropeng Luka	Kelembaban	Warna Luka	Keropeng Luka	Kelembaban	Warna Luka	Keropeng Luka
5%	Mean	2.00	2.33	2.33	1.33	3.33	3.00	1.00	1.00	2.33
	SD	0.00	0.58	0.58	0.58	0.58	0.00	0.00	0.00	0.58
10%	Mean	1.33	2.00	2.00	1.33	3.00	2.67	1.00	1.00	2.00
	SD	0.58	0.00	0.00	0.58	0.00	0.58	0.00	0.00	0.00
15%	Mean	1.33	2.00	2.33	1.33	3.00	2.67	1.00	1.00	2.67
	SD	0.58	0.00	0.58	0.58	0.00	0.58	0.00	0.00	0.58
Kontrol	Mean	2.67	2.33	2.67	1.00	3.00	2.67	1.33	1.00	2.67
	SD	0.58	0.58	0.58	0.00	0.00	0.58	0.58	0.00	0.58
Nilai p		0.073	0.535	0.432	0.748	0.392	0.748	0.392	1.000	0.326

\* Uji Kruskal Wallis ( $p < 0,05$ )

Tabel 5.1 menunjukkan perbedaan kelembaban, warna luka dan keropeng luka berdasarkan kelompok perlakuan di tiga *time period*. Pada pengamatan parameter kelembaban luka, pada hari ketiga, nilai rerata kelembaban tertinggi pada kelompok kontrol (2.67), diikuti konsentrasi 5% (2.00), serta konsentrasi 10% (1.33) dan 15% (1.33). Dari hasil uji statistik uji Kruskal Wallis ( $p < 0,05$ ) diperoleh nilai p (0.073) yang berarti ada perbedaan rerata kelembaban antara kelompok perlakuan yang satu dengan yang lainnya. Pada pengamatan hari ke-7, nilai rerata kelembaban tertinggi pada konsentrasi 5% (1.33) , 10% (1.33) dan 15% (1.33) sedangkan terendah pada konsentrasi kontrol (1.00). Dari hasil uji statistic uji Kruskal Wallis ( $p < 0,05$ ) diperoleh nilai p (0.748) yang berarti tidak ada perbedaan rerata kelembaban antara kelompok perlakuan yang satu dengan yang lainnya. Pada pengamatan hari ke-14, nilai rerata kelembaban tertinggi pada konsentrasi kontrol (1.33) dan sedangkan terendah pada konsentrasi 5% (1.00), 10% (1.00) dan 15% (1.00). Dari hasil uji statistik uji Kruskal Wallis ( $p < 0,05$ ) diperoleh nilai p (0.392) yang berarti tidak ada perbedaan rerata kelembaban antara kelompok perlakuan yang satu dengan yang lainnya.

Dari hasil analisa pengamatan klinis efektifitas konsentrasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* terhadap kelembaban luka tampak bahwa konsentrasi 10% dan 15% yang memiliki kelembaban luka yang paling baik diantara semua perlakuan dengan kondisi luka kering (+1).

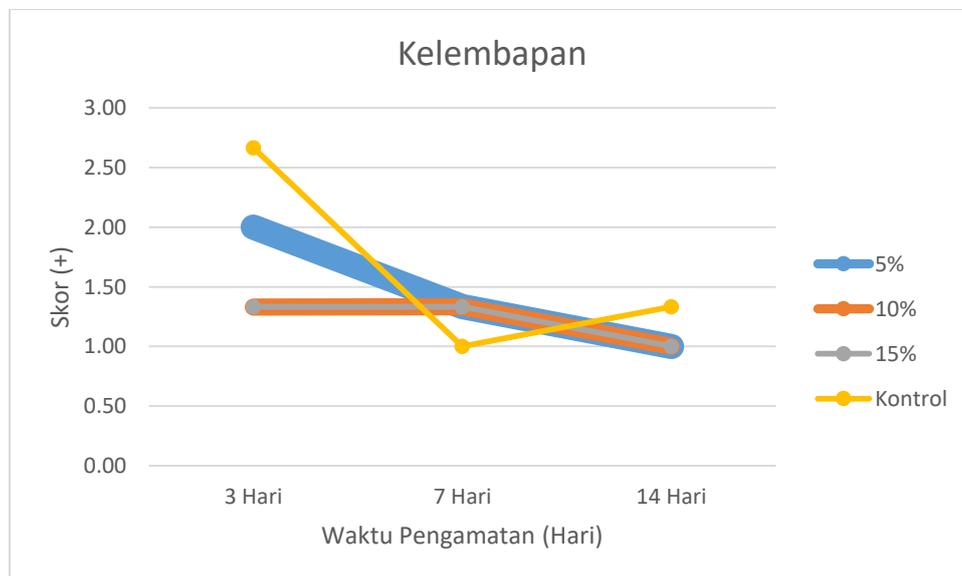
Untuk parameter warna luka, pada pengamatan hari ketiga nilai rerata warna luka tertinggi pada konsentrasi 5% dan kelompok kontrol (2.33) sedangkan terendah pada konsentrasi 10% (2.00) dan 15% (2.00). Dari hasil uji statistic uji Kruskal Wallis  $p(< 0,05)$  diperoleh nilai  $p$  (0.535) yang berarti tidak ada perbedaan rerata warna luka antara kelompok perlakuan yang satu dengan yang lainnya. Pada pengamatan hari ketujuh, nilai rerata warna luka tertinggi pada konsentrasi 5% (2.33) sedangkan terendah pada konsentrasi 10% (2.00), 15% (2.00) dan kelompok kontrol (2.00). Dari hasil uji statistik uji Kruskal Wallis  $p(< 0,05)$  diperoleh nilai  $p$  (0.392 yang berarti tidak ada perbedaan rerata warna luka antara kelompok perlakuan yang satu dengan yang lainnya. Demikian pula pada pengamatan hari ke-14, Nilai rerata warna luka memiliki nilai yang sama antara perlakuan yang satu dengan yang lainnya sebesar 1.00.

Dari hasil analisa pengamatan klinis efektifitas konsentrasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* terhadap warna luka memperlihatkan konsentrasi terbaik adalah konsentrasi 10% dan 15% dimana pada pengamatan hari ketiga telah terjadi perubahan luka dari merah segar ke warna merah kecoklatan (+2) sebagai indikator luka lebih cepat mengering.

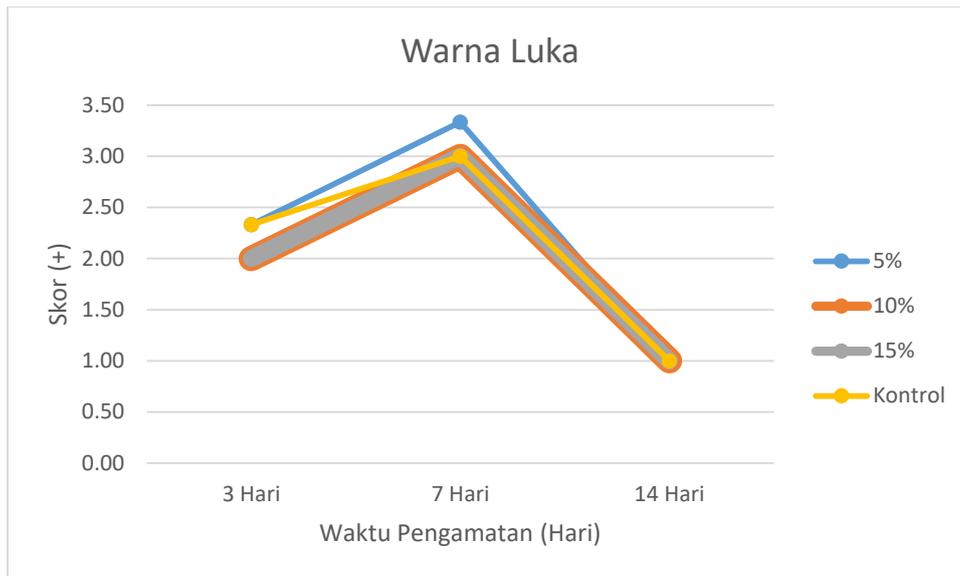
Pada parameter keropeng luka, pengamatan pada hari ketiga, nilai rerata keropeng luka tertinggi pada konsentrasi 5% (2.67), konsentrasi 15% (2.33) dan kontrol (2.33) sedangkan terendah pada konsentrasi 10% (2.00). Dari hasil uji statistik uji Kruskal Wallis  $p(< 0,05)$  diperoleh nilai  $p$  (0.432) yang berarti tidak ada perbedaan rerata

keropeng luka antara kelompok perlakuan yang satu dengan yang lainnya. Sedangkan pengamatan hari ketujuh, nilai rerata keropeng luka tertinggi pada konsentrasi 5% (3.00) sedangkan terendah pada konsentrasi 10% (2.67), 15% (2.67) dan kontrol (2.67), dari hasil uji statistic uji Kruskal Wallis  $p(< 0,05)$  diperoleh nilai p (0.748) yang berarti tidak ada perbedaan rerata keropeng luka antara kelompok perlakuan yang satu dengan yang lainnya. Dan pada hari ke-14 nilai rerata keropeng luka memiliki nilai yang tertinggi konsentrasi 15% (2.67) dan kontrol (2.67), konsentrasi 5% (2.33) dan yang terendah adalah konsentrasi 10% (2.00)

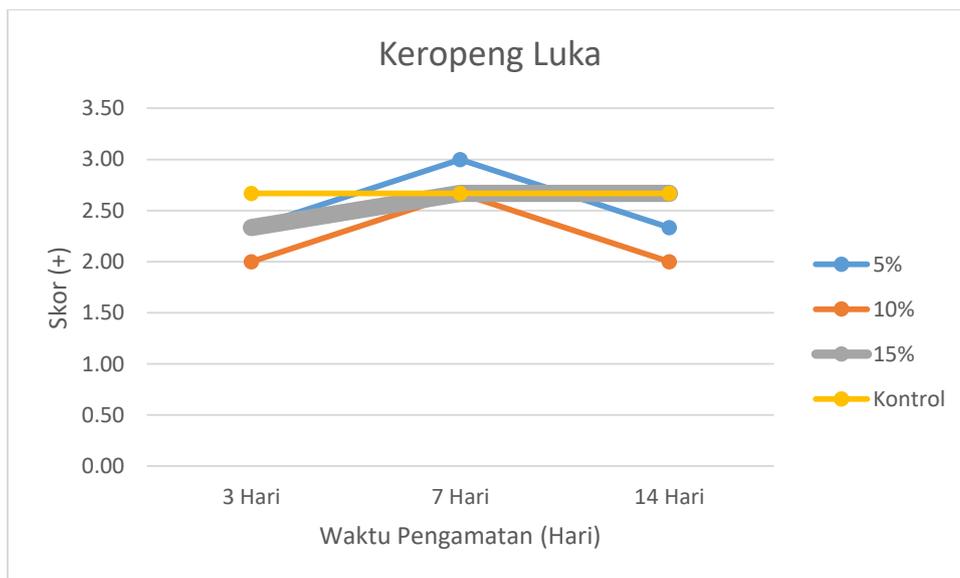
Dari hasil analisa pengamatan klinis efektifitas konsentrasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* terhadap keropeng luka memperlihatkan konsentrasi terbaik adalah konsentrasi 10% dimana pada pengamatan hari ketujuh telah terjadi perubahan kondisi luka yang sudah menutup.



Gambar 5.4 Pengamatan klinis kelembapan luka pada 3 hari, 7 hari dan 14 hari.



Gambar 5.5 Pengamatan klinis warna luka pada 3 hari,7 hari dan 14 hari



Gambar 5.6 Pengamatan klinis keropeng luka pada 3 hari, 7 hari dan 14 hari.

## 2. Pengamatan Histologi

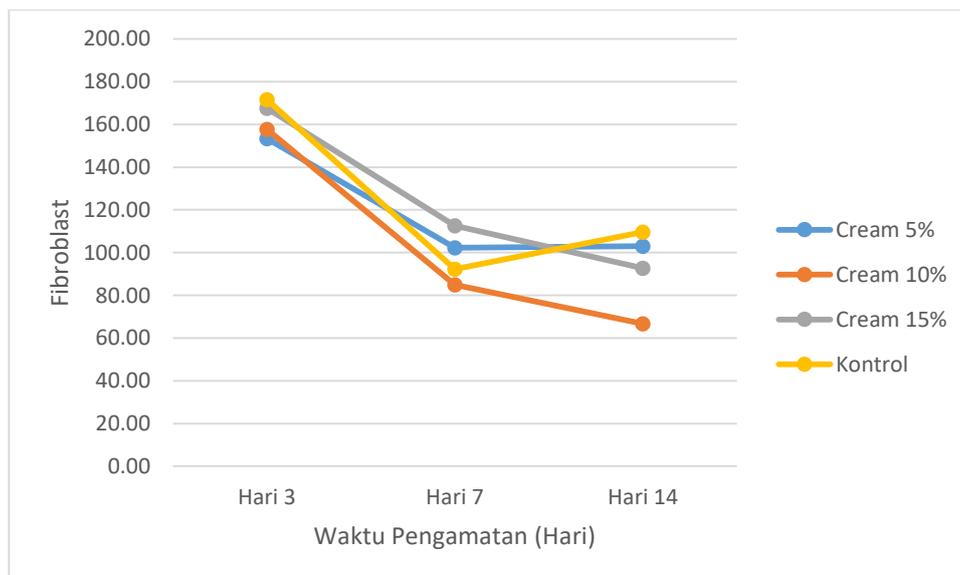
Untuk pengamatan histologi dilakukan dengan menggunakan mikroskop Olympus CX31 dengan pembesaran 40x . Tujuan dari pengamatan ini adalah untuk melihat struktur dan morfologi dari sel-sel terutama sel fibroblas yang ada pada masing masing spesimen luka berdasarkan 3 *time periode* yang dikelompokkan dalam persentase 5%, 10% dan 15% serta pada kelompok kontrol dengan jumlah preparat sebanyak 36 slide.

Tabel 5.2: Perbedaan hasil pemeriksaan histologi jumlah sel fibroblas berdasarkan konsentrasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris*.

Kelompok	Hari 3		Hari 7		Hari 14		Nilai p
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
Cream 5%	153.33	34.56	102.33	49.57	103.00	53.23	0.368*
Cream 10%	157.67	48.05	85.00	54.06	66.67	11.06	0.082*
Cream 15%	167.67	40.08	112.67	63.57	92.67	23.54	0.193*
Kontrol	171.67	43.25	92.33	31.56	109.67	35.30	0.086*
Nilai p	0.837*		0.916**		0.482**		

\* Uji Anova ( $p < 0,05$ )

\*\* Uji Kruskal Wallis ( $p < 0,05$ )

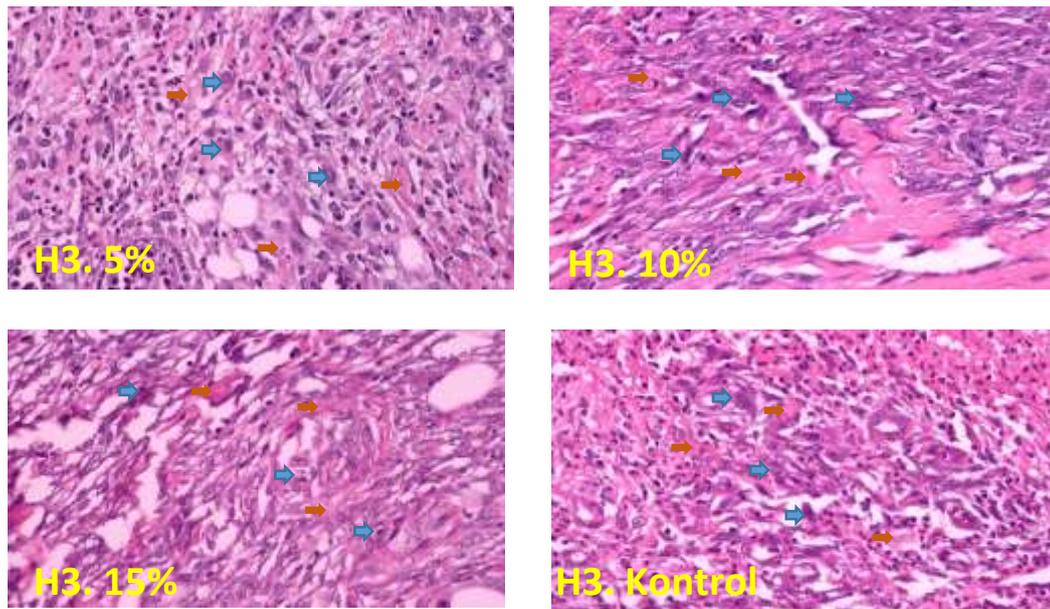


Gambar 5.7 Perbedaan hasil pemeriksaan histologi jumlah sel fibroblas berdasarkan konsentrasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris*.

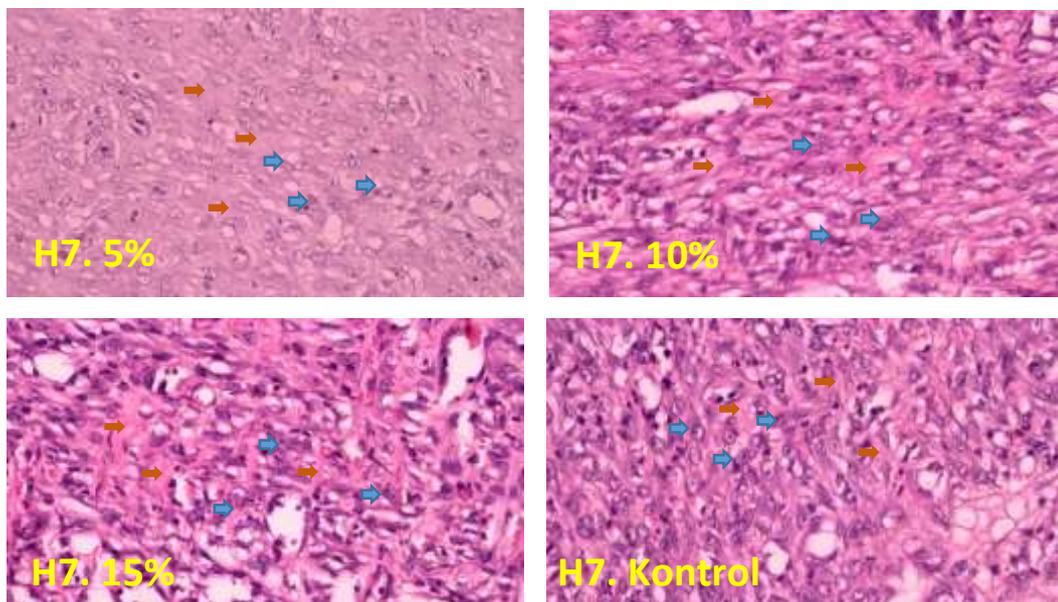
Dari hasil analisa jumlah sel fibroblas menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara peningkatan dan penurunan jumlah sel fibroblast pada perhitungan jumlah sel fibroblas antar *time period*.

Pada pemeriksaan dan perhitungan sel fibroblas hewan uji perlakuan 5% menunjukkan peningkatan jumlah sel fibroblast pada hari ke-3 dengan rerata antar hewan percobaan 153.33 dan menurun pada hari ke-7 menjadi 102.33 dan meningkat kembali pada hari ke-14 menjadi 103. Untuk hewan uji perlakuan 10% menunjukkan peningkatan jumlah sel fibroblast yang lebih tinggi dari kelompok 5%, pada hari ke-3 dengan jumlah rerata 157.67 kemudian menurun dihari ke-7 menjadi 85 dan mengalami penurunan kembali di hari ke-14 dengan rerata 66.67. Untuk perhitungan jumlah sel fibroblast pada kelompok perlakuan 15% juga terjadi peningkatan jumlah sel fibroblast dengan rerata yang hamper sama dengan 10% yaitu 167.67 dan mengalami penurunan pada hari ke-7 dan ke-14 yaitu 112.67 dan 92.67. Dan untuk pengamatan kelompok kontrol menunjukkan peningkatan sel fibroblas pada hari ke-3, dimana hari ke-3 yaitu 171.67 dan terjadi penurunan pada hari ke-7 yaitu 92.33 dan meningkat kembali pada hari ke-14 menjadi 109.67.

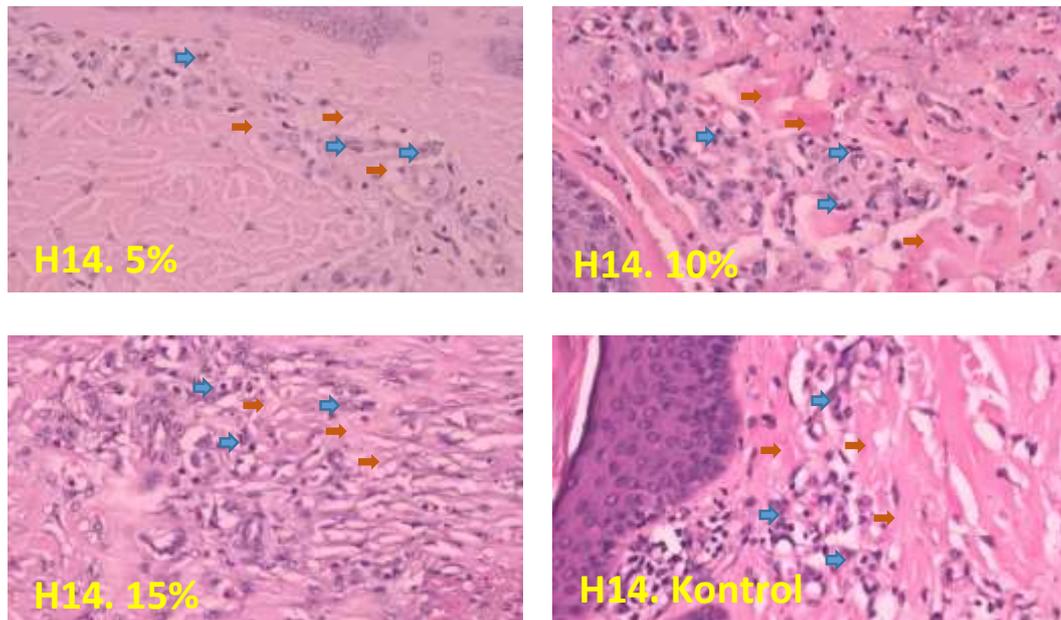
Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa untuk kelompok yang mendapat perlakuan aplikasi krim 10% dan 15% sel fibroblas meningkat di hari ke-3 dan terjadi penurunan di hari ke-7 dan hari ke-14. Sementara untuk kelompok kontrol dan krim 5% terjadi peningkatan dihari ke-3 dan menurun dihari ke-7 dan meiningkat kembali di hari ke-14.



Gambar 5.8 Perubahan jumlah sel fibroblas setelah aplikasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* hari ke-3 pada hewan coba 1 kosentrasi 5%, 10%, 15% dan tanpa aplikasi/kontrol. Sel Fibroblas (➡), daerah luka dengan sedikit/tanpa sel fibroblas & telah digantikan oleh kolagen (➡).



Gambar 5.9 Perubahan jumlah sel fibroblas setelah aplikasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* hari ke-7 pada hewan coba 1 kosentrasi 5%, 10%, 15% dan tanpa aplikasi/kontrol. Sel Fibroblas (➡), daerah luka dengan sedikit/tanpa sel fibroblas & telah digantikan oleh kolagen (➡).



Gambar 5.10 Perubahan jumlah sel fibroblas setelah aplikasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* hari ke-14 pada hewan coba 1 kosentrasi 5%, 10%, 15% dan tanpa aplikasi/kontrol. Sel Fibroblas (➡), daerah luka dengan sedikit/tanpa sel fibroblas & telah digantikan oleh kolagen (➡).

## **BAB VI**

### **PEMBAHASAN**

#### **VI.1 Pengaruh Pemberian Krim Ekstrak *Chlorella vulgaris* 5%, 10% dan 15 %**

Pemberian krim ekstrak *Chlorella vulgaris* 5%,10% dan 15% pada setiap kelompok hewan coba dengan melihat parameter kelembaban, warna luka dan keropeng luka berdasarkan hasil data menunjukkan bahwa diantara semua kelompok konsentrasim krim ekstrak *Chlorella vulgaris* 10% menunjukkan perubahan parameter luka yang terbaik.

Dari hasil pengamatan klinis tampak bahwa penggunaan krim ekstrak *Chlorella vulgaris* pada konsentrasi 10% memberikan kesembuhan luka yang progresif lebih cepat diikuti krim dengan konsentrasi 15% dan 5%, hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Indah Faradiba melakukan uji krim ekstrak *Chlorella vulgaris* menyimpulkan bahwa sediaan krim 10% lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi 5% dan 15% dimana semua sediaan tidak menimbulkan iritasi pada mukosa hewan uji.

Pada pemberian krim *Chlorella vulgaris* konsentrasi 10% cenderung lebih cepat menutup luka dibandingkan dengan krim *Chlorella vulgaris* konsentrasi 5 % dan 15%. Hal ini dapat dipengaruhi oleh stabilitas formulasi krim itu sendiri. Secara umum krim *Chlorella vulgaris* 10% nampak lebih stabil yang ditunjukkan dengan warna yang lebih pekat dan perubahan warna menjadi terang yang cenderung lebih lambat dibandingkan pada krim *Chlorella vulgaris* 5% dan 15%. Formulasi krim yang tepat dengan stabilitas zat aktif dalam krim yang baik dapat mendukung penyembuhan luka yang lebih optimal.

Zat aktif dalam sediaan krim masuk ke dalam basis atau zat pembawa yang akan membawa obat untuk kontak pada permukaan kulit. Beberapa keuntungan sediaan krim diantaranya lebih mudah diaplikasikan, nyaman digunakan, tidak lengket dan mudah

dicuci dengan air, dibandingkan dengan sediaan salep, gel dan pasta. Selain itu, krim dapat meningkatkan dan memperbaiki kelembaban kulit sehingga kandungan air pada kulit lebih baik dan kulit pun menjadi kenyal dan lentur.<sup>51</sup>

Selain absorpsi obat yang baik, kandungan dari *Chlorella vulgaris* menjadi faktor yang paling berpengaruh terhadap kecepatan penyembuhan luka pada hewan uji. *Chlorella vulgaris* memiliki empat kandungan utama yaitu klorofil, karotenoid, phycobilin, dan *Chlorella growth factor* (CGF), yang berpengaruh nyata terhadap kesehatan, termasuk dalam proses penyembuhan luka. Menurut Ferdi dalam penelitiannya, konsentrasi klorofil 0,05 - 0,5% yang terdapat dalam *Chlorella vulgaris* dapat menginvasi dan memperbanyak fibroblas yang berguna dalam proses penyembuhan luka. Fibroblas akan menghasilkan kolagen yang membentuk sebagian dari jaringan granulasi yang terbentuk di daerah terjadinya luka. Beta karotena yang merupakan komponen *Chlorella vulgaris* juga meningkatkan imunitas dengan meningkatkan integritas jaringan dan meningkatkan aktifitas sel pertahanan. *Chlorella growth factor* (CGF) mengandung faktor-faktor pemacu pertumbuhan pada organisme meliputi berbagai unsur gizi seperti asam amino, gula, vitamin, mineral, dan asam nukleat. CGF tersebut dapat mendukung proses penyembuhan luka melalui optimalisasi regenerasi sel-sel kulit. Selain memacu regenerasi sel, CGF juga memiliki peran penting terhadap aktifitas sel radang yang mendukung kecepatan kesembuhan luka.<sup>51</sup>

Pengamatan klinis memperlihatkan luka yang diberikan krim ekstrak *Chlorella vulgaris* luka cenderung menutup dengan cepat dan tertutup oleh endapan *Chlorella vulgaris* yang ada di atasnya. Penelitian yang dilakukan oleh Ferdi dan Edy Machmud, pada hari-hari awal pemberian ekstrak *Chlorella vulgaris* menutup luka membentuk semacam lapisan berwarna hijau tua kondisi inilah yang kemungkinan mempercepat proses penyembuhan.<sup>7,8</sup>

## **VI.2 Perubahan klinis luka dan penyembuhan luka antara waktu pengamatan hari ke-3, ke-7 dan ke-14.**

Dari hasil parameter kelembaban luka antara waktu pengamatan 3 hari, 7 hari dan 14 hari memperlihatkan perbedaan yang signifikan. Menurut Setyorini dalam penelitiannya, adanya sayatan menyebabkan kulit kehilangan retraksinya sehingga terjadi luka terbuka yang membentuk celah. Sayatan menyebabkan radang karena sayatan tersebut menyebabkan perubahan bentuk pada kapiler menjadi lebih besar. Luka yang terlihat basah disebabkan oleh dilatasi pembuluh darah berkepanjangan sehingga jumlah cairan kompartemen ekstrasel bertambah secara abnormal.<sup>7</sup>

Luka lembab nampak pada hari ke 3 diberi skor +2 pada babi dengan perlakuan 10%, sedangkan luka kering diberi skor +1 pada hari ke-14. Luka mengering dan membentuk keropeng dihari selanjutnya hingga luka menutup dan keropeng terlepas dari luka. Pada fase ini juga terjadi angiogenesis yaitu suatu proses kapiler-kapiler pembuluh darah yang baru tumbuh atau pembentukan jaringan baru (*granulasi tissue*).<sup>13</sup>

Untuk parameter warna luka, Luka berwarna segar pada hari 1 dan terjadi perubahan warna luka pada hari ke-3 menjadi merah kecoklatan diberi skor +2, selanjutnya terdapat perubahan warna luka menjadi merah pucat dengan skor +3 dan merah segar dengan skor +4 pada hari ke-7 dan sama untuk semua konsentrasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris*. Selanjutnya pada hari ke-14 terjadi perubahan yang signifikan dimana warna luka rerata menjadi pucat /normal yang diberi skor +1 untuk semua presentase krim ekstrak *Chlorella vulgaris*.

Luka yang telah mengering kemudian menebal membentuk keropeng pada permukaan luka. Perbaikan jaringan terus terjadi sampai membentuk jaringan kulit yang baru pada luka yang tertutup oleh keropeng. Pada saat luka menutup sempurna, keropeng

akan tertarik dan terlepas dari luka sehingga nampak jaringan kulit yang baru. Keropeng yang terlepas setelah luka menutup diikuti dengan tumbuhnya rambut pada jaringan kulit yang baru. Tumbuhnya rambut pada daerah luka tersebut menunjukkan terjadinya proses regenerasi dan kondisi kulit sudah mulai kembali normal.<sup>53</sup>

Pada hari ke-3, rata-rata pada semua perlakuan menunjukkan kondisi luka yang lembab hingga mulai mengering. Luka menjadi lembab akibat pelepasan trombosit dan protein yang membentuk jaringan fibrosa serta terbentuknya fibrin pada permukaan luka. Luka yang mulai mengering disebabkan oleh adanya perbaikan dari sistem sirkulasi sehingga tekanan hidrostatik seimbang. Pada luka yang diberi krim menunjukkan luka nampak lebih kering. Hal ini dapat dipengaruhi oleh kandungan lemak pada basis yang dapat menarik air sehingga luka lebih cepat kering.<sup>54</sup>

Untuk parameter keropeng luka, memperlihatkan pada hari ke-3 dan ke-7 memperlihatkan luka berkeropeng dengan skor +2, sementara hari ke-14 memperlihatkan luka menutup dan tidak berkeropeng lagi dengan skor +1.

Pada hari ke-14, luka dengan perlakuan yang diberi krim *Chlorella vulgaris* konsentrasi bertingkat telah tertutup. Keropeng yang sebelumnya menutupi luka telah terlepas (Gambar 5.1). Keropeng terlepas saat luka menutup yang diikuti oleh tumbuhnya rambut beberapa hari setelah luka menutup. Prinsip dasar penyembuhan luka yang optimal untuk meminimalkan kerusakan jaringan dengan menyediakan perfusi jaringan dan oksigenasi yang cukup, pemberian nutrisi yang tepat dengan kondisi lingkungan yang lembab untuk mengembalikan kontinuitas anatomi dan fungsi jaringan yang rusak dalam waktu singkat. Manajemen luka terkini salah satunya bertujuan untuk menciptakan lingkungan luka yang lembab untuk mempercepat penyembuhan luka (*moist wound healing*). Konsep ini diungkapkan George Winter yang dalam penelitiannya menunjukkan epitelisasi terjadi dua kali lebih cepat pada kondisi lembab dibandingkan kondisi kering.

Selain kelembaban yang tepat, terbentuknya jaringan granulasi pada luka menjadi tanda proses penyembuhan luka sedang berlangsung.<sup>55,56</sup>

*Chlorella vulgaris* mengandung banyak senyawa fitokimia seperti sterol, flavonoid, tannin, fenol, terpenoid, saponin, senyawa sulfur, serta kandungan nutrisi lain yang berpengaruh nyata terhadap kesehatan, termasuk untuk penyembuhan luka sayat pada hewan uji. Penelitian yang dilakukan Febram, salah satu kandungan *Chlorella vulgaris* yang berpengaruh terhadap penyembuhan luka, utamanya terhadap kelembaban luka adalah flavonoid dan tannin. Flavonoid dapat menghentikan pendarahan pada luka serta sebagai anti inflamasi yang akan mempengaruhi produksi sel-sel inflamasi dalam fase penyembuhan luka. Adanya kandungan flavonoid pada krim dapat mempengaruhi perubahan kondisi luka basah menjadi lebih cepat lembab.<sup>56</sup> Kandungan flavonoid yang dimiliki oleh *Chlorella vulgaris* inilah yang diyakini sangat berperan dalam proses penyembuhan luka tersebut. Flavonoid dalam hal ini senyawa steroid bekerja dengan menghasilkan enzim yang akan menghambat proses terjadinya inflamasi serta memodulasi sel-sel yang terlibat dalam proses peradangan seperti sel limfosit, monosit, sel mast, neutrophil dan makrofag.<sup>55</sup>

Selain flavonoid, kandungan tannin sebagai astrigen yang dapat berpengaruh terhadap berkurangnya permeabilitas mukosa dan ikatan antar mukosa menjadi kuat sehingga mencegah iritan. Sehingga, secara tidak langsung tannin berpengaruh terhadap perubahan tiap tingkatan kelembaban. Selain berpengaruh terhadap permeabilitas mukosa, tannin juga dapat mempengaruhi permeabilitas dinding atau membrane bakteri sehingga bakteri mengkerut dan mati. Sifat antibakterial ini dapat mencegah infeksi pada luka.<sup>55</sup>

Saponin yang terkandung di dalam *Chlorella vulgaris* dapat berpengaruh terhadap produksi kolagen pada tahap awal perbaikan jaringan dan merangsang regenerasi sel epitel pada kulit sehingga mempercepat proses penyembuhan luka pada hewan uji.

Senyawa fenol berperan dalam mencegah kerusakan sel akibat radikal bebas sehingga mencegah proses inflamasi dan peradangan. Selain saponin dan senyawa fenol, *Chlorella vulgaris* juga mengandung terpenoid yang bermanfaat menurunkan aktifitas inflamasi. Adanya daya antiinflamasi pada *Chlorella vulgaris* menyebabkan proses inflamasi pada luka sayat telinga babi perlakuan mampu dihambat dan proses penyembuhan luka dapat terjadi lebih cepat.<sup>53,56</sup>

Menurut Yazukawa dalam penelitiannya, beberapa jenis sterol yang diekstraksi dari *Chlorella vulgaris* mampu menghambat peradangan tertentu pada kulit. Sterol dapat mencegah peradangan dan mencegah alergi berkepanjangan serta regenerasi sel kulit. Kandungan sterol *Chlorella vulgaris* dapat mendukung penyembuhan luka sayat pada babi, perlakuan yang diberi krim *Chlorella vulgaris* sehingga pengaruhnya nampak nyata dibandingkan dengan kelompok kontrol.<sup>56</sup>

Keberagaman hasil individu dalam kelompok yang sama maupun berbeda dapat dipengaruhi oleh kandungan senyawa yang mengintervensi luka. Menurut Qomariah semua senyawa kimia memunyai kecenderungan untuk menghasilkan beberapa reaksi ketika terdapat kontak dengan kulit. Respon dapat disebabkan adanya abrasi fisik oleh partikel walaupun waktu kontak relatif tidak lama dan sedikit. Interaksi kimia dari substansi asing cairan atau solid pada kulit juga dapat menimbulkan respon pada kulit. Respon yang dihasilkan akan dapat berbeda antarindividu, bergantung pada sensitivitas masing-masing individu. Hal ini dikenal dengan variasi individu setiap perlakuan.<sup>56</sup>

*Chlorella vulgaris* dapat meningkatkan aktifitas sel pembunuh alami (*natural killer cell*). Selain itu, juga dapat mencegah stres psikologis dan mempertahankan homeostatis terhadap rangsangan stres eksternal melalui peningkatan kortikosteroid dalam darah. Kecepatan penyembuhan luka yang diberi krim *Chlorella vulgaris* dapat

dipengaruhi oleh peningkatan aktifitas sel pembunuh alami dan proses peradangan. *Chlorella vulgaris* juga mengandung antibiotik yang disebut chlorellin. Kandungan antibiotik dalam ekstrak *Chlorella vulgaris* dapat mencegah terjadinya infeksi sehingga mendukung penyembuhan luka pada hewan perlakuan.<sup>6</sup>

### **VI.3 Pengamatan histologi sel fibroblas antara waktu pengamatan 3 hari, 7 hari dan 14 hari**

Seluruh spesimen dilakukan pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan hematoxylin-eosin menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali. Masing-masing spesimen diperiksa jumlah fibroblast. Pada hari ke-7 semua konsentrasi terjadi penurunan jumlah fibroblast, sedangkan pada hari ke-14 terjadi peningkatan jumlah fibroblast pada konsentrasi krim 5% dan kontrol. Oky Masir dalam penelitiannya, secara umum pada proses penyembuhan luka yang ditandai dengan peningkatan skor indikator penyembuhan seperti pembentukan kolagen, vaskularisasi, fibrosis dan epitelisasi pada hari ke-7 yang berbeda dengan hari ke-3 serta peningkatan restriksi jaringan. Kondisi ini mengandung pemahaman bahwa proses penyembuhan terjadi secara alami.<sup>56</sup> Peningkatan kepadatan fibroblas ini disebabkan oleh meningkatnya rangsangan protein sekretori FGF sebagai hasil dari degranulasi platelet. Hasil mikroskopis mengarah kemungkinan adanya aktivitas *Chlorella vulgaris* terhadap fibroblast sebagai pengantara efek percepatan penyembuhan luka yang dilakukan oleh *Chlorella vulgaris*. *Chlorella vulgaris* akan memodulasi pada hari-hari awal perlukaan sehingga fibroblas mengandakan diri menjadi lebih cepat dan lebih banyak.<sup>8</sup>

Peran fibroblas sangat besar pada proses perbaikan yaitu bertanggung jawab pada persiapan menghasilkan produk struktur protein yang akan digunakan selama proses rekonstruksi jaringan. Fibroblast (menghubungkan sel-sel jaringan) yang berpindah ke

daerah luka mulai 24 jam pertama setelah pembedahan. Proses utama pertrumbuhan fibroblas akan terjadi di hari ke-7 sampai ke-14 pasca perlukaan dan setelah itu akan akan terus terjadi penyempurnaan sampai struktur kulit akan kembali normal.<sup>57</sup>

Makrofaq mulai berkumpul di daerah luka pada 24 jam hingga 48 jam pasca perlukaan, begitu juga dengan fibroblast. Berkumpulnya sejumlah besar makrofaq yang cukup untuk memberikan efek yang nyata mulai terjadi pada hari ke-2 dan sejalan dengan itulah terjadi peningkatan produksi faktor pertumbuhan. Makrofag sebagai sel yang sangat penting dalam penyembuhan luka memiliki fungsi fagositosis bakteri dan jaringan mati akan berubah menjadi makrofag efferositosis (M2) yang mensekresi sitokin anti inflamasi seperti IL-4, IL-10, IL13. Makrofag mensekresi proteinase untuk mendegradasi matriks ekstraseluler (ECM) dan penting untuk membuang material asing, merangsang pergerakan sel, dan mengatur pergantian ECM. Makrofag M2 merupakan penghasil sitokin dan growth factor yang menstimulasi proliferasi fibroblast, produksi kolagen, pembentukan pembuluh darah baru, dan proses penyembuhan lainnya. Makrofag akan menggantikan peran polimorfonuklear sebagai sel dominan. Platelet dan faktor-faktor lainnya menarik monosit dari pembuluh darah. Ketika monosit mencapai lokasi luka, maka monosit akan dimatangkan menjadi makrofag. Peningkatan sitokin akan mempengaruhi jumlah fibroblast sehingga peningkatan jumlahnya dapat dengan nyata terlihat pada pengamatan histopatologi hari ke-3 dan terus mengalami peningkatan pada hari ke-7.<sup>3</sup>

Pada hari ke-14 jumlah fibroblast pada kelompok perlakuan krim ekstrak *Chlorella vulgaris* cenderung lebih rendah dan paling nyata terlihat pada kelompok dengan konsentrasi 10%. Sedikitnya jumlah fibroblast menunjukkan jaringan ikat telah terbentuk pada luka yang telah diberi ekstrak. Pada saat permukaan luka sudah tertutup, proses fibroplasia dengan pembentukan jaringan granulasi juga akan terhenti dan mulailah proses pematangan. Hal ini menjelaskan pada pengamatan hari ke-14 jumlah fibroblas pada

kelompok luka perlakuan mengalami penurunan dibandingkan pada hari ke-3 karena pada hari ke-10 (fase proliferasi) luka pada kelompok perlakuan sudah tertutup semua oleh epitel sehingga fibroblas tidak disintesis lagi sehingga jumlahnya menurun. Disini dapat disimpulkan bahwa proses penyembuhan luka berjalan dengan baik karena ekstrak *Chlorella vulgaris* mempercepat terjadinya epitelisasi.

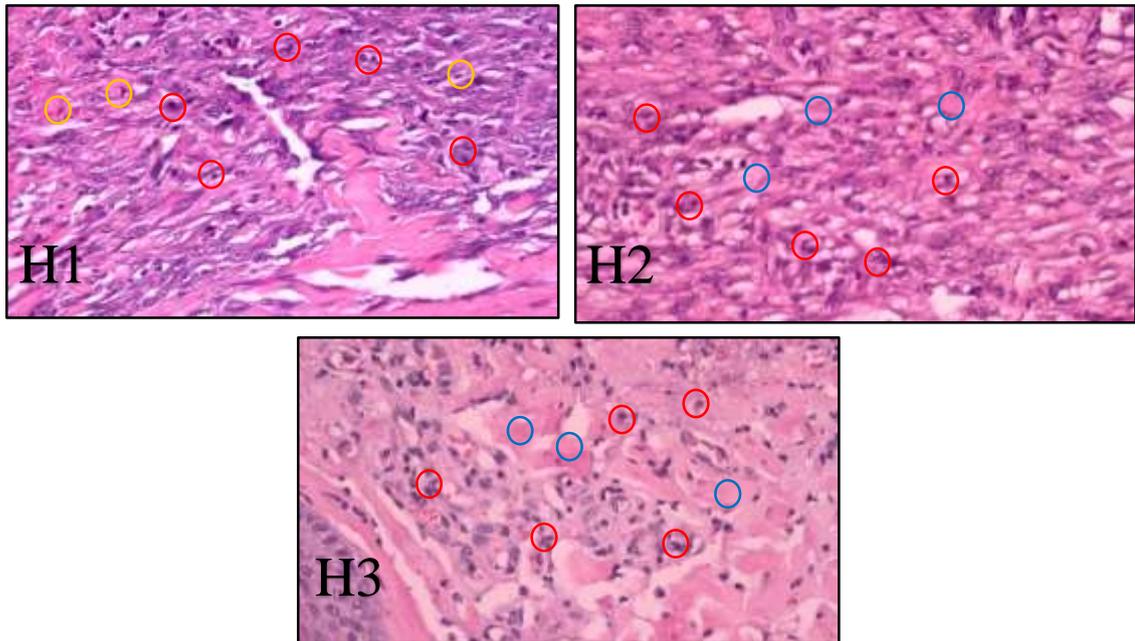
Fibroblas menghasilkan kolagen yang menautkan tepi luka sehingga jaringan bekas luka menjadi kuat. Selanjutnya, tubuh berusaha menormalkan semua yang menjadi abnormal karena proses penyembuhan. Edema dan sel radang, sel muda menjadi matang, kolagen yang berlebih dan kapiler yang baru menutup diserap kembali, dan sisanya mengerut sesuai regangan yang ada.<sup>31</sup>

Semakin sempurna penyembuhan suatu luka maka semakin sedikit jumlah fibroblasnya, karena adanya fibroblast menunjukkan masih terjadinya proses penyembuhan luka. Hal ini berbeda pada kelompok kontrol dan konsentrasi 5% dimana pada pengamatan hari ke-14 jumlah sel fibroblas semakin bertambah dibandingkan hari ke-3 dan ke-7 kelompok perlakuan. Dengan demikian banyaknya jumlah sel fibroblast menandakan belum sempurnanya pembentukan kolagen yang akan membentuk jaringan ikat yang akan menautkan luka. Jadi walaupun secara klinis luka pada kelompok kontrol tertutup tetapi secara histologis didalam luka masih berlangsung proses peningkatan fibroblas dan sintesis kolagen masih sedikit.<sup>24</sup>

Peran fibroblas sangat besar pada proses perbaikan, yaitu bertanggung jawab pada persiapan menghasilkan produk struktur protein yang akan digunakan selama proses rekonstruksi jaringan. Pada keadaan normal, aktivitas pembelahan fibroblast sangat jarang terlihat, namun ketika terjadi perlukaan sel ini terlihat lebih aktif dalam memproduksi matriks ekstraseluler. Proliferasi fibroblas dalam proses penyembuhan luka secara alami distimulasi oleh interleukin-1b (IL-1b), platelet *derived growth factor* (PDGF), dan

*fibroblast growth factor* (FGF). Migrasi fibroblast pada area perlukaan distimulasi oleh *transforming growth factor* (TGF), yaitu faktor pertumbuhan yang dihasilkan oleh jaringan granulasi yang terbentuk selama proses inflamasi. Proses penyembuhan luka sangat dipengaruhi oleh peranan migrasi dan proliferasi fibroblas pada area perlukaan. Adanya kandungan dari krim ekstrak *Chlorella vulgaris* yang diaplikasikan pada luka hewan uji merangsang sintesa faktor faktor pertumbuhan termasuk didalamnya adalah *fibroblast growth factor* (FGF) sehingga meningkatkan aktivitas sel fibroblas untuk memproduksi kolagen dan membentuk jaringan ikat sehingga luka mengalami penyembuhan dengan cepat.<sup>24</sup>

Pada daerah perlukaan, ketika proses inflamasi terjadi maka makrofag, limfosit dan fibroblast akan berkumpul di daerah luka kemudian fibroblas akan muncul dan meningkat jumlahnya nyata pada hari ke-3 dan terus mengalami penurunan pada hari ke-7. Hari ke-14 luka telah menutup yang menandakan proses fibroblasia akan berhenti dan fibroblas akan berangsur-angsur berkurang dan hilang tergantikan oleh jaringan kolagen dan terjadi penyembuhan luka. Hal ini jelas terlihat pada kelompok perlakuan krim dengan konsentrasi 10% (gambar 5.6) yang menunjukkan terbuktinya efektifitas dari aplikasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* dalam proses penyembuhan luka.



Gambar 6.1 Fase Penyembuhan Luka Setelah Aplikasi Krim ekstrak *Chlorella vulgaris*. Tampak pada hari ke 3 (H1) adanya gambaran inti sel limfosit yang gelap (lingkar kuning) dan sel fibroblast (lingkar merah) berupa sel berkapsul yang didalamnya berisi 1 inti sel. Pada Hari ke 7 (H2) terjadi penurunan jumlah sel fibroblas (lingkar merah). Pada hari ke 14 (H3) Sebagian sel fibroblas telah hilang dan tergantikan oleh jaringan kolagen (lingkar biru).

Hasil penelitian ini mempunyai implikasi bahwa *Chlorella vulgaris* dapat digunakan secara topikal untuk mengobati luka yang terdapat di permukaan tubuh. *Chlorella vulgaris* mungkin dapat di manfaatkan untuk luka pada kulit termasuk luka bakar, eksisi, luka selaput lendir seperti sariawan dan luka bekas pencabutan gigi. Dalam bidang prostodonsia penggunaan *Chlorella vulgaris* dapat digunakan sebagai pengobatan luka pasca pemasangan implan pada gigi, perawatan kelainan maksilofasial dan pembuatan gigi tiruan *immediate*. Pada pembuatan gigi tiruan *immediate* yaitu gigi tiruan yang dibuat terlebih dahulu, kemudian baru dipasang setelah pencabutan gigi, dengan tujuan untuk mengembalikan faktor estetika penderita. Keadaan ini terjadi karena setelah pencabutan gigi, trauma pencabutan gigi menyebabkan inflamasi, yang berakibat terjadinya resorpsi tulang alveolar. Dalam hal ini penggunaan *Chlorella vulgaris*

mempunyai keuntungan tambahan selain mempercepat penyembuhan luka, pemberiannya yang mudah dan tidak ada efek racun yang pernah dilaporkan.

Adapun keterbatasan penelitian ini adalah penggunaan hewan coba, yang seharusnya menggunakan babi jenis mini pig, akan tetapi karena biaya yg mahal dan di indonisea susah mendapatkan jenis babi mini pig, maka dalam penelitian ini kami menggunakan babi jenis Landrace. Babi Landrace berwarna putih, terkenal karena babi ini bertubuh panjang seperti busur, besar, lebar, bulu halus, dan juga kakinya panjang. Babi jantan dewasa bobot badannya dapat mencapai sekitar 320-410 kg dan bobot badan induk dapat mencapai 250-340 kg.<sup>46</sup> Menurut American Mini Pig Association, babi mini standar dapat memiliki tinggi 35 - 50 cm, tinggi pundak 45 cm dan panjang 71 cm, warna hitam putih dan ada warna yang hitam semua.<sup>58</sup>

## **BAB VII**

### **PENUTUP**

#### **VII.1 SIMPULAN**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Pemberian krim ekstrak *Chlorella vulgaris* 5%, 10% dan 15% pada setiap kelompok hewan coba dengan melihat parameter kelembaban, warna luka dan keropeng luka berdasarkan hasil analisa data menunjukkan bahwa konsentrasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* 10% menunjukkan perubahan parameter luka yang terbaik.
2. Terjadi perubahan penyembuhan yang signifikan dari 3 *time periode* setelah pemberian krim ekstrak *Chlorella vulgaris*. Semakin sempurna penyembuhan suatu luka maka semakin sedikit jumlah fibroblasnya, karena adanya fibroblast menunjukkan masih terjadinya proses penyembuhan luka.

#### **VII.2 SARAN**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka peneliti mengajukan saran sebagai berikut:

1. Dapat dilakukan kajian penelitian serupa menggunakan variasi konsentrasi dan pengaplikasian yang lebih efektif.
2. Penambahan ketelitian pengamatan dengan penggunaan pewarnaan khusus seperti Masson Trichrome, perhitungan eosinophil dan netrofil sebagai sel-sel PMN.
3. Penelitian ini akan menjadi landasan untuk kemungkinan dilakukan pengujian klinis pada manusia, terutama dalam rongga mulut untuk perawatan luka pasca pencabutan gigi pada pembuatan gigi tiruan *immediate*, pemasangan implan gigi dan perawatan kelainan maksilofasial.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Alam G, Singh MP, Singh A. Wound healing potential of some medicinal plants. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2011;9(1):136–45.
2. Oktavia R. Teknik Bedah Peninggian Lingir Alveolar sebagai Salah Satu Penunjang Keberhasilan di bidang Prostetik. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara; 2005.
3. Primadina N, Basori A, Perdanakusuma DS. Proses penyembuhan luka ditinjau dari aspek mekanisme seluler dan molekuler. *Qanun Med*. 2019;3(1):31–43. <http://10.30651/jgm.v3i1.2198>
4. Purnama H, Sriwidodo SR. Review sistematik: Proses Penyembuhan Dan Perawatan Luka. *Farmaka*. 2017;15(2):251–8. <https://doi.org/10.24198/jf.v15i2.13366.g6184>
5. Machmud E. *Chlorella Vulgaris*. 1st ed. Makassar: Masagena Press; 2019.
6. Steenblock. *Chlorella Makanan Sehat Dan Alamai*. Jakarta: Gramedia; 2000.
7. Ferdi. Persembuhan Luka yang Ditetesi Ekstrak Chlorella (*Chlorella vulgaris*) pada Mencit. Institut Pertanian Bogor; 2006; p.1–48.
8. Machmud E, Ruslin M, Waris R, Asse RA, Muamar A. Effect of the Application of Chlorella Vulgaris Ointment to the Number of Fibroblast Cells as an Indicator of Wound Healing in the Soft Tissue of Pig Ears. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*. 2020; 20(e5012).1–10. <http://dx.doi.org/10.1590/pboci.2020.032>
9. Mescher AL. *Histologi Dasar Junqueira*. Edisi 12. Diedit oleh H. Hartanto, editor. Jakarta: EGC; 2014.
10. Adams CA, Biffi WL, Cioffi WG. Wounds, Bites and Stings. In: Feliciano DV (eds.) *Trauma*. 7th. Ed. New York: McGrawHill: 2008;p.1029–48.
11. Rihatmadja R. *Anatomi dan Faal Kulit dalam Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin*. edisi 7. Jakarta: Badan Penerbit FK UI; 2015.
12. Anthony LM. *Histologi Dasar Junqueira*. 12th ed. Jakarta: EGC; 2012.
13. Faten K, Soad SA, Tagreed AH. *Plectranthus tenuiflorus* (Shara) Promotes Wound Healing: In vitro and in vivo Studies. *International Journal of Botany*. 2010;1–12.

<http://10.3923/ijb.2010.69.80> · Source: DOAJ

14. Lorenz HP. Wounds: Biology, Pathology, and management. In: Norton JA, Bollinger RR, Chang AE, Lowry SF, Mulvihill SJ, Pass HI, Thompson RW, editors. *Surgery: Basic Science and Clinical Evidence*. 2th. Ed. New York: Springer-Verlag. 2011; p.221-36.
15. Barbul A. Wound Healing. In: Brunickardi FC, Anderson DK, Billir TR, Dunn DL, Hunter JG, Pollock RE, editors. *Schwartz's Principles of Surgery*. 8th. Ed. New York: McGraw-Hill; 2005; p. 223-46.
16. Broughton, Janis JE, Attiger CE. Wound healing: an overview. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2006; 117(7s).1e-S-32e-S. <http://10.1097/01.prs.0000222562.60260.f9>
17. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in Dermatology*. 25th ed. 2007; p. 9-18.
18. Gurtner GC. Wound Healing: Normal and Abnormal. In: Thorne CH, Beasley RW, Aston SJ, Barlett SJ, Gurtner GC, Spear SL, editor. *Grabb dan Smith's Plastic surgery*. 6th. Ed. Philadelphia: Lippincott William dan Wilkin; 2007; p.15–22.
19. Gonzales AC, Andrade Z, Costa TF. Wound Healing- A Literature review. 2016;91(15):614-20. <https://dx.doi.org/10.1590%2Fabd1806-4841.20164741>
20. Keller U, Kumin A, Braun SW. Reactive Oxygen Species and Their Detoxification in Healing Skin Wounds. *J Investig Dermatology Symp Proceedings*. 2006;11:106-11. <https://doi.org/10.1038/sj.jidsymp.5650001>
21. Yunanda V, Rinanda T. Aktivitas Penyembuhan luka sedian topical ekstrak bawang merah (*Allium Cepa*) terhadap luka sayat kulit mencit (*Mus Musculus*). *Jurnal Veteriner*. 2016;17(4):606-14. <https://10.19087/jveteriner.2016.17.4.606>
22. Leong M. Wound Healing. In: Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL, editor. *Sabiston Textbook of Surgery*. 17th. Ed. Philadelphia: Elsevier; 2004. p.182-204.
23. Lawrence WT. Wounds: Biology, Pathology, and management. In: Norton JA, Bollinger RR., Chang AE, Lowry SF, Mulvihill SJ, Pass HI, Thompson RW, editor. *Surgery: Basic Science and Clinical Evidence*. 2th. Ed. New York: Springer-Verlag; 2001. p.221-36.
24. Darby IA, Laverdet B. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2014;7:301-11. <https://dx.doi.org/10.2147%2FCCID.S50046>

25. Putri SS. Potensi perasan daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap jumlah sel fibroblas pasca gingivektomi pada tikus wistar jantan [skripsi]. Jember: Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember; 2012.
26. Bock C, Krienitz L, Proschold T. Taxonomic reassessment of the genus *Chlorella* (Trebouxiophyceae) using molecular signatures ( barcodes ), including description of seven new species. *J Czech Phycol Soc.* 2011;11(2):293–312. <https://doi.org/10.5507/fot.2011.028>
27. Ueno C, Hunt TK, Hopf HW. Using Physiology to Improve Surgical Wound Outcomes. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2006;117(7S):59S-71S. <https://doi.org/10.1097/01.prs.0000225438.86758.21>
28. Lazarus GS, Cooper DM, Knighton DR, David J, Rodeheaver G, Robson MC. Definition and guidelines for assesment of Wounds and Evaluation of Healing. *Arch Dermatol.* 1994;130(4):489-93. <https://doi.org/10.1001/archderm.1994.01690040093015>
29. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The Wound Healing Process : an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *Journal of International Medical Research.* 2009;37:1528-42. <https://doi.org/10.1177/147323000903700531>
30. Li S, Huang NF, Hsu S. Mechanotransduction in Endothelial Cell Migration. *J Cell Biochem.* 2005;1126:1110–26. <https://doi.org/10.1002/jcb.20614>
31. Djuwita, Harlystriani, Widyaputri T, Effendi A, Kaiin N. Tingkat pertumbuhan dan analisa protein sel sel fibroblast fetal tikus hasil kultur in vitro. *Indonesian Journal of Veterinary Science & Medicine.* 2010;1(2):9-16.
32. Junqueira et al. *Histologi Dasar Teks dan Atlas.* Alih bahasa dr. Jan Tambayong. Jakarta: EGC; 2007.
33. Fawcett DW. *Buku Ajar Histologi Ed.12.* Alih bahasa oleh Jan Tambayong. EGC Jakarta; 2002.
34. Leeson CR. *Buku Ajar Histologi.* Penerbit Buku Kedokteran . EGC, editor. Jakarta; 1996.
35. Anum Y, Yusof M, Maimunah J, Basari H, Mukti NA, Sabuddin R. Fatty acids composition of microalgae *Chlorella vulgaris* can be modulated by varying carbon dioxide concentration in outdoor culture. *African Journal of Biotechnology.* 2011;10(62):13536-42. <https://doi.org/10.5897/AJB11.1602>

36. Rosahdi TD, Susanti Y, Suhendar D. Uji Aktivitas Daya Antioksidan Biopigmen Pada Fraksi Aseton Dari Mikroalga *Chlorella vulgaris*. 2015;IX(1):1-16.
37. Zebib B, Merah O. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. Elsevier. 2014;35:265-78.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>
38. Blinova L, Bartosova A, Gerulova K. Cultivation Of Microalgae (*Chlorella Vulgaris*) For Biodiesel Production. *Fac Mater Sci Technol TRNAVA*. 2015;23(36):87-95.  
<http://10.1515/rput-2015-0010>
39. Guiry M. *Chlorella vulgaris* In *Algae Base*. World-wide Electron Publ Natl Univ Ireland, Galway; 2016.
40. Helly DF, Limantara BP. Karotenoid dari makroalga dan mikroalga: potensi kesehatan aplikasi dan bioteknologi. *J Teknol dan Industri Pangan*. 2012;XXIII(2):221-8.  
<http://10.6066/jtip.2012.23.2.221>
41. Nur'aenah N, Setyaningsih ID, Desniar. Pengaruh metode ekstraksi senyawa bioaktif intraseluler *Chlorella sp* terhadap pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus*. *Prosiding Pertemuan Ilmiah dan Seminar Nasional MPHPI. Pros Pertem Ilm dan Semin Nas MPHPI Politek Negeri Pontianak – IPB*; 2011.
42. Syed S, Arasu A, Ponnuswamy I. The Uses of *Chlorella Vulgaris* as Antimicrobial Agent and as a Diet : the Presence of Bio-active Compounds which Caters the Vitamins, Minerals in General. *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology*. 2015;7(1):185-90.  
<http://10.14257/ijbsbt.2015.7.1.19>
43. Ditjen POM. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995.
44. Anief M. *Farmasetika Cetakan III*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 2005.
45. Marriott JF. *Pharmaceutical Compounding and Dispensing*. London: Pharmaceutical Press; 2010.
46. Sanchez F. *Morphology Of The Dental Arcade In Adult Pigs ( Sus scrofa domesticus)*. *Clinical Veterineria Rio Duero*; 2018.
47. Ansell DM, Holden KA, Hardman MJ. *Animal models of wound repair : Are they cutting*

- it?.Exp Dermatol. 2012;21(8):581–5. <http://10.1111/j.1600-0625.2012.01540.x>
48. Zuo Y, Yu X, Lu S. Dermal Fibroblasts from Different Layers of Pig Skin Exhibit Different Profibrotic and Morphological Characteristics. *Anat Rec (Hoboken)*. 2016;6(59):1-7. <https://doi.org/10.1002/ar.23458>
  49. Yurista SR, Ferdian RA, Sargowo D. Principles of the 3Rs and ARRIVE Guidelines in Animal Research Prinsip 3Rs dan Pedoman ARRIVE pada Studi Hewan Coba. *J Kardiologi Indones*. 2016;37(3):156–63.
  50. Mellor DJ. Moving beyond the “ Five Freedoms ” by Updating the “ Five Provisions ” and Introducing Aligned “ Animal Welfare Aims ”. 2016;6(10):1-7. <https://10.3390/ani6100059>
  51. Sriwahyuni. Pengaruh pemberian salep fitoplankton *Chlorella vulgaris* terhadap penyembuhan luka sayat (Incisi) pada mencit (*Mus Musculus albinus*) [skripsi]. Makassar. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin; 2016.
  52. Patihul H, Alike NP. Formulasi Krim Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk). *J Ilm Farm Farmasyifa*. 1995;2(2):101-10.
  53. Yanhendri, Yenny SW. Berbagai bentuk sediaan topical dalam dermatologi. *Cermin Dunia Kedokteran*. 2012;39(6):423-30.
  54. Akhbar B. Tumbuhan dengan senyawa aktif yang berpotensi sebagai bahan antifertilitas. Penerbit Adiba press; 2010:p.4-5.
  55. Davies N, Yanez J. *Flavonoid Pharmacokinetics*. United States Of America: Wiley; 2013.
  56. Masir O, Manjas M, Putra AE, Salmiah A. Pengaruh Cairan Kultur Filtrate Fibroblast (CFF) Terhadap Penyembuhan Luka; Penelitian eksperimental pada *Rattus Norvegicus* Galur Wistar, *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2012;1(3):112-17.
  57. Febram B, Wientarsih I, Pontjo B. Aktivitas Sediaan Salep Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var *sapientum*) Dalam Proses Persembuhan Luka Pada Mencit (*Mus musculus albinus*). *Maj Obat Tradis*. 2010;15(3):121-37.
  58. American Mini Pig Association. What Is An American Mini Pig? [Internet]. [Cited 20 Oktober 2020]. Available from: <https://americanminipigassociation.com/mini-pig-education/what-is-an-american-mini-pig/>

## LAMPIRAN 1

### DATA PENGAMATAN KLINIS

Tabel 1

Hewan Uji	0 Hari Aplikasi Krim (Kelompok 3 Hari)											
	Kelembaban				Warna Luka				Keropeng Luka			
	5%	10%	15%	Kontrol	5%	10%	15%	Kontrol	5%	10%	15%	Kontrol
1	+3	+3	+3	+3	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4
2	+3	+3	+3	+3	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4
3	+3	+3	+3	+3	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4

Tabel 2

Hewan Uji	3 Hari Aplikasi Krim											
	Kelembaban				Warna Luka				Keropeng Luka			
	5%	10%	15%	Kontrol	5%	10%	15%	Kontrol	5%	10%	15%	Kontrol
1	+2	+1	+2	+3	+3	+2	+2	+3	+3	+2	+3	+3
2	+2	+1	+1	+3	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+3
3	+2	+2	+1	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2

Tabel 3

Hewan Uji	7 Hari Aplikasi Krim (Kelompok 7 Hari)											
	Kelembaban				Warna Luka				Keropeng Luka			
	5%	10%	15%	Kontrol	5%	10%	15%	Kontrol	5%	10%	15%	Kontrol
1	+3	+3	+3	+3	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4
2	+3	+3	+3	+3	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4
3	+3	+3	+3	+3	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4

Tabel 4

Hewan Uji	7 Hari Aplikasi Krim											
	Kelembaban				Warna Luka				Keropeng Luka			
	5%	10%	15%	Kontrol	5%	10%	15%	Kontrol	5%	10%	15%	Kontrol
1	+2	+1	+1	+1	+4	+3	+3	+3	+3	+2	+2	+2
2	+1	+1	+1	+1	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3
3	+1	+2	+2	+1	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3

Tabel 5

Hewan Uji	0 Hari Aplikasi Krim (Kelompok Perlakuan 14 Hari)											
	Kelembaban				Warna Luka				Keropeng Luka			
	5%	10%	15%	Kontrol	5%	10%	15%	Kontrol	5%	10%	15%	Kontrol
<b>1</b>	+3	+3	+3	+3	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4
<b>2</b>	+3	+3	+3	+3	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4
<b>3</b>	+3	+3	+3	+3	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4	+4

Tabel 6

Hewan Uji	14 Hari Aplikasi Krim											
	Kelembaban				Warna Luka				Keropeng Luka			
	5%	10%	15%	Kontrol	5%	10%	15%	Kontrol	5%	10%	15%	Kontrol
<b>1</b>	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+2	+2	+2	+2
<b>2</b>	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+3	+2	+3	+3
<b>3</b>	+1	+1	+1	+2	+1	+1	+1	+1	+2	+2	+3	+3

#### PENGAMATAN HISTOLOGI (JUMLAH SEL FIBROBLAS)

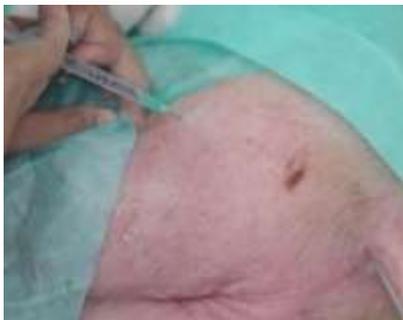
Kelompok Perlakuan	Hari Ke 3	Hari Ke 7	Hari Ke 14
Krim 5%	120	159	127
Krim 5%	140	189	151
Krim 5%	81	42	67
Krim 10%	201	146	77
Krim 10%	121	126	120
Krim 10%	66	55	43
Krim 15%	197	146	77
Krim 15%	91	184	122
Krim 15%	40	70	140
Kontrol	122	128	115
Kontrol	142	192	201
Kontrol	81	72	68

## LAMPIRAN 2

### PENGAMBILAN SAMPEL

#### Pembuatan luka sayat pada sampel

- Sebelum masuk dalam tahap pembuatan luka sayat pada telinga babi maka terlebih dahulu dilakukan disinfeksi dengan betadine pada daerah yang akan dibuat perlukaan dan selanjutnya babi dianestesi inhalasi menggunakan obat Zoletil 50 mg/ml dengan dosis per 12mg/kg (dilakukan oleh dokter hewan).



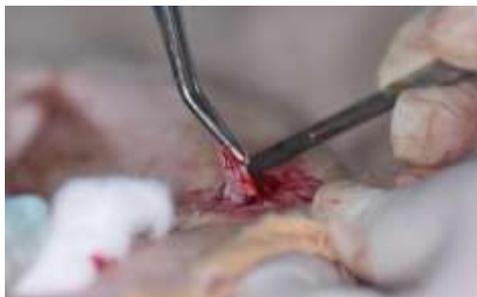
- Babi Landrace didisinfeksi daerah yang akan dilakukan pembuatan luka sayatan dengan melakukan pencukuran bulu dilanjutkan dengan pemberian alcohol dan pengolesan povidine iodium.



- Memberi tanda ukuran sayatan menggunakan animal marker dengan ukuran 2cm x 1cm dengan membuat 4 daerah perlukaan
- Lakukan anastesi pada daerah yang diberi tanda dengan lidokain



- Dengan menggunakan blade dilakukan incise luka sayat pada masing masing daerah operasi yang telah diberi tanda





- Isolasi perdarahan
- Melakukan aplikasi krim *Chlorella vulgaris* masing masing pada sayatan yaitu 5%,10%,15% dan tanpa aplikasi *Chlorella vulgaris* sebagai kelompok kontro



### LAMPIRAN 3

#### PENGAMBILAN SPESIMEN TELINGA

##### Pengambilan kulit

- Pengambilan kulit telinga babi dilakukan setelah dilakukan anestesi lokal dengan lidokain 2%, kulit digunting dengan mengikuti daerah luka .



- Kulit yang diperoleh kemudian di fiksasi dengan larutan neutral buffer formalin 10% dibiarkan pada suhu kamar selama  $\pm$  48 jam.



## LAMPIRAN 4

### PEMBUATAN PREPARAT

- ✓ Spesimen jaringan kulit dibersihkan dan dibuang sisa yang tidak perlu.
- ✓ Selanjutnya dilakukan pewarnaan HE
  - Potong blok paraffin dengan mikrotom pada ketebalan 3-4 $\mu$



- Celupkan kedalam Waterbath



- Ambil potongan jaringan dengan slide lalu tiriskan
- Tulis pada slide kode sesuai blok paraffin dengan pensil



- Panaskan slide diatas Hot Plate selama 1 jam



- Dinginkan slide lalu masukkan kedalam keranjang slide
- Deparafinasi ( Xylol I, Xylol II, Xylol III) masing-masing 5 menit



- Rehidrasi (Alkohol 96%, Alkohol 80%, Alkohol 70%), masing-masing selama 5 menit



- Cuci air mengalir selama 5 menit



- Rendam dengan hematoxylin Meyer 5 menit



- Cuci air mengalir selama 5 menit



- Celup-celup kedalam larutan Eosin 10 detik
- Dehidrasi ( Alkohol 70%, Alkohol 80%, Alkohol 96%) masing-masing 5 menit



- Clearing ( Xylol I, Xylol II, Xylol III)



- Keringkan slide lalu tetesi dengan entelan lalu tutup dengan deck glass.

## LAMPIRAN 5

### PENGAMATAN KLINIS PADA LUKA HEWAN UJI

#### 1. PENGAMATAN KLINIS PADA LUKA HEWAN UJI PENGAMATAN HARI KE-3



Hewan Coba 1



Hewan Coba 2



Hewan Coba 3

#### 2. PENGAMATAN KLINIS PADA LUKA HEWAN UJI PENGAMATAN HARI KE-7



Hewan Coba 1



Hewan Coba 2



Hewan Coba 3

**3. PENGAMATAN KLINIS PADA LUKA HEWAN UJI PENGAMATAN HARI KE-3**



Hewan Coba 1



Hewan Coba 2

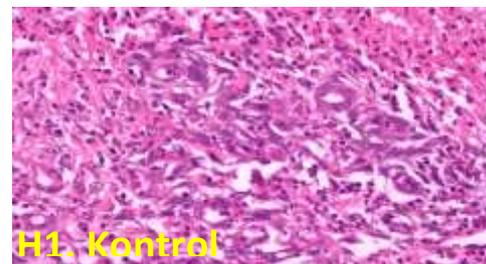
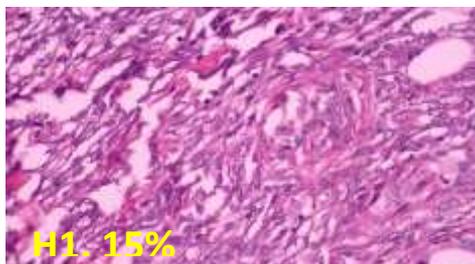
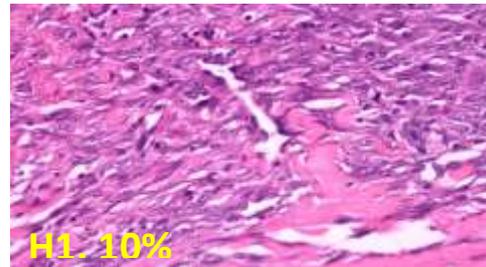
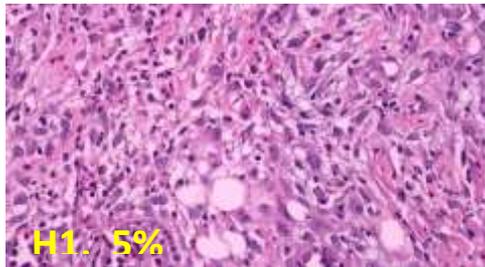


Hewan Coba 3

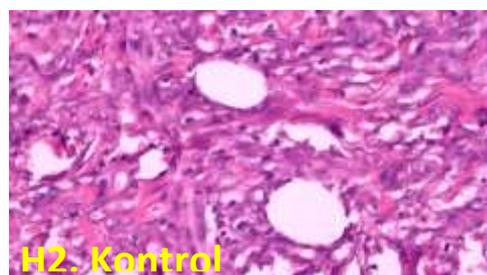
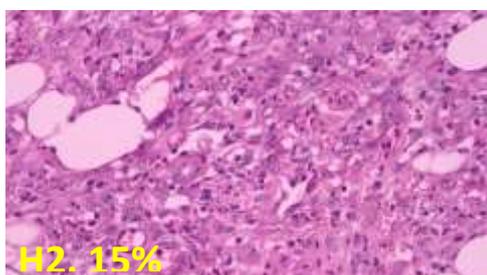
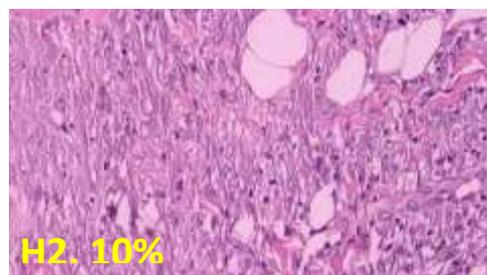
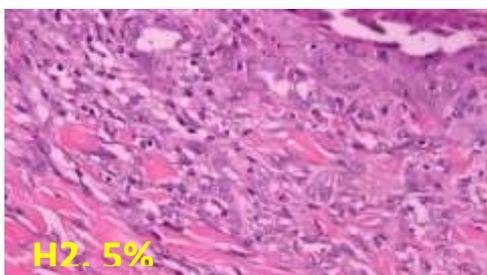
## LAMPIRAN 6

### GAMBARAN HISTOLOGI HEWAN UJI

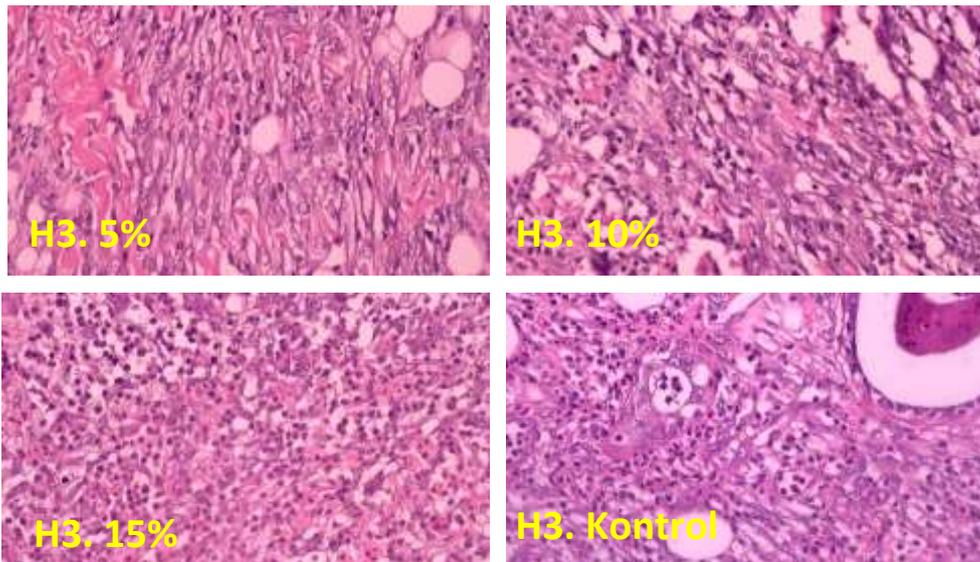
#### 1. GAMBARAN HISTOLOGI HEWAN UJI PENGAMATAN HARI KE-3



Perubahan Jumlah Sel Fibroblas Setelah tanpa aplikasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* rerata hari ke-3 pada hewan coba 1

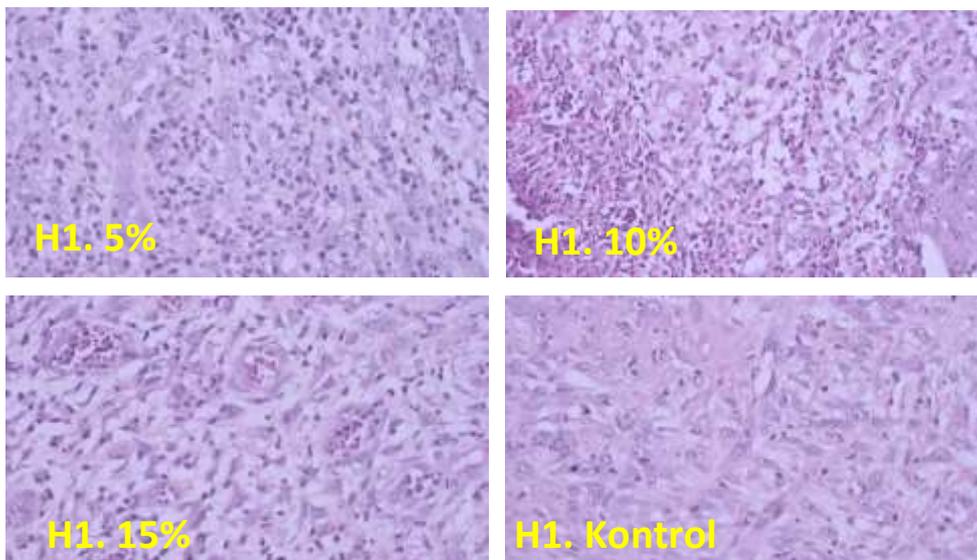


Perubahan Jumlah Sel Fibroblas Setelah tanpa aplikasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* rerata hari ke-3 pada hewan coba 2

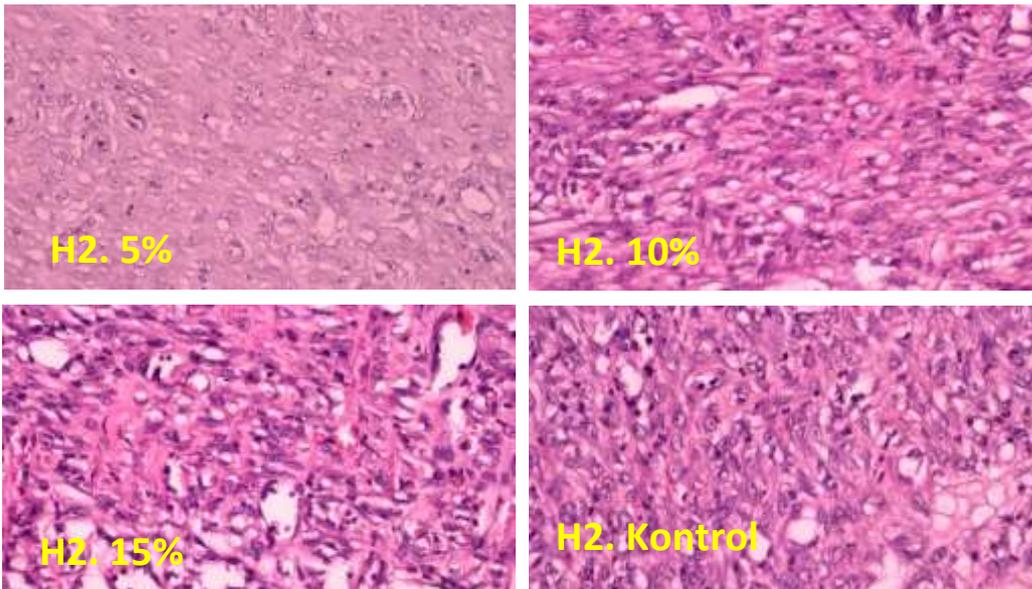


Perubahan Jumlah Sel Fibroblas Setelah tanpa aplikasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* rerata hari ke-3 pada hewan coba 3

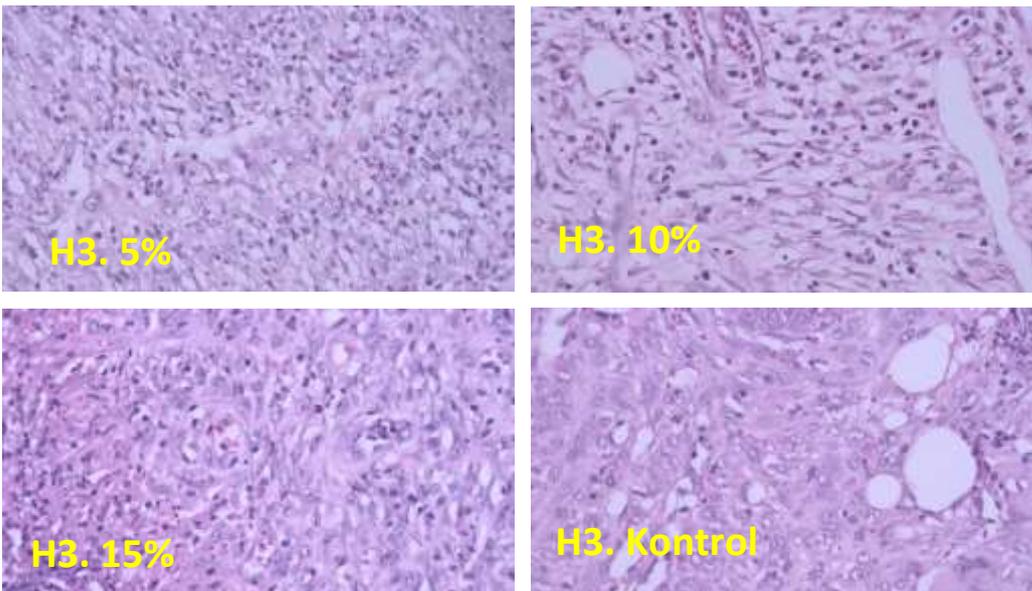
**2. GAMBARAN HISTOLOGI HEWAN UJI PENGAMATAN HARI KE-7**



Perubahan Jumlah Sel Fibroblas Setelah tanpa aplikasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* rerata hari ke-7 pada hewan coba 1

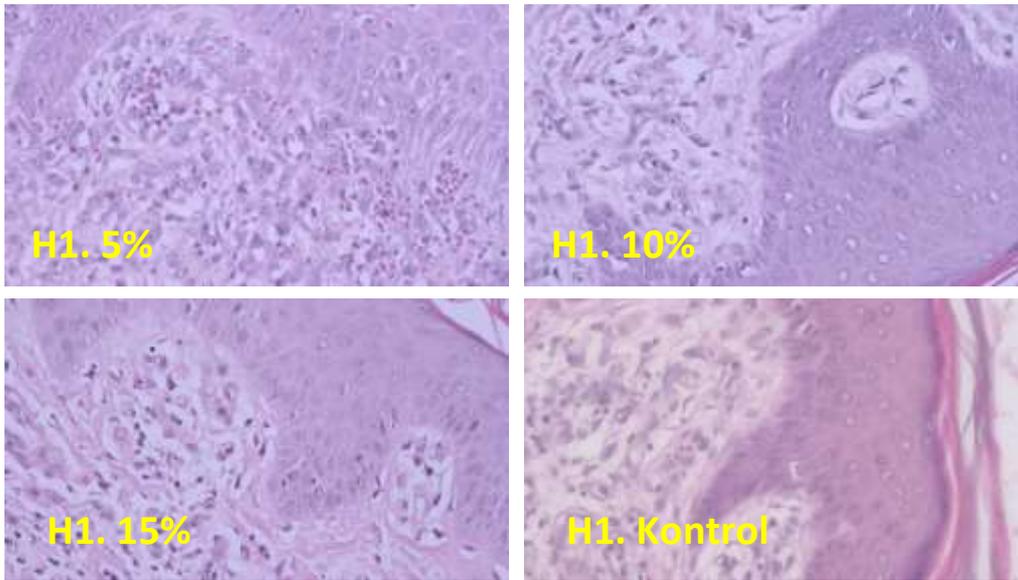


Perubahan Jumlah Sel Fibroblas Setelah tanpa aplikasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* rerata hari ke-7 pada hewan coba 2

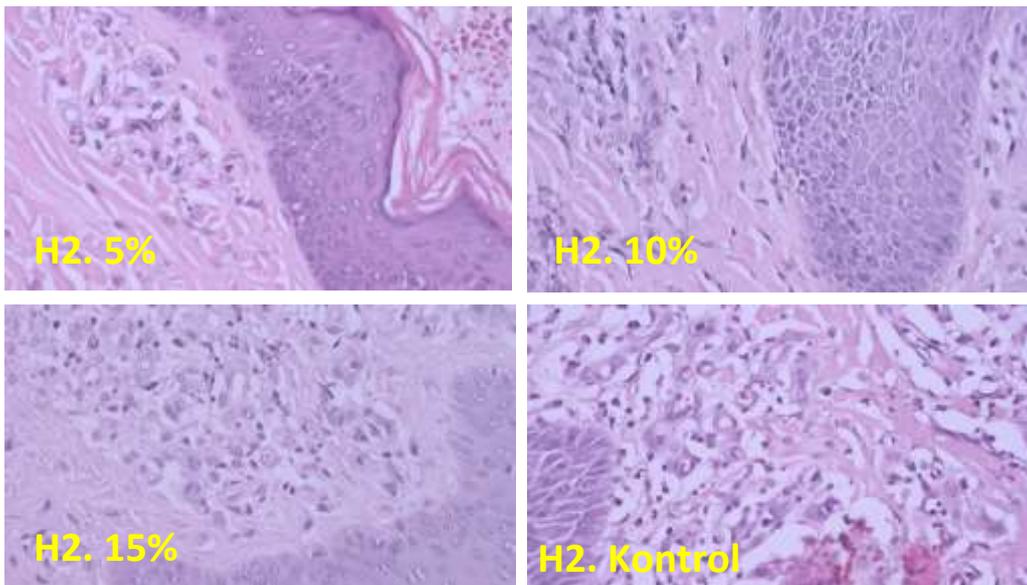


Perubahan Jumlah Sel Fibroblas Setelah tanpa aplikasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* rerata hari ke-7 pada hewan coba 3

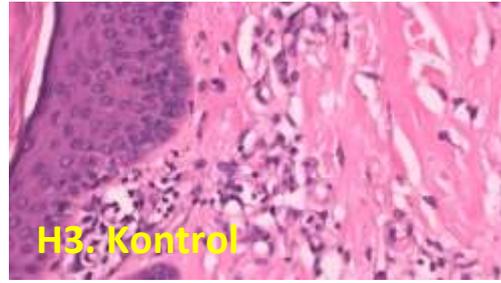
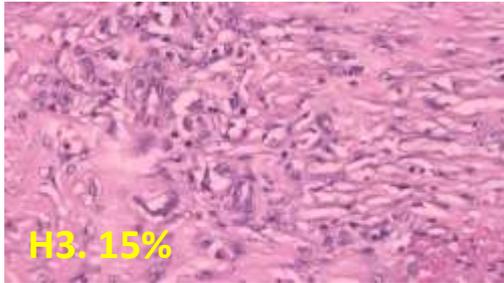
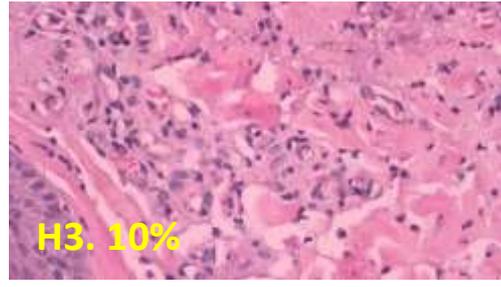
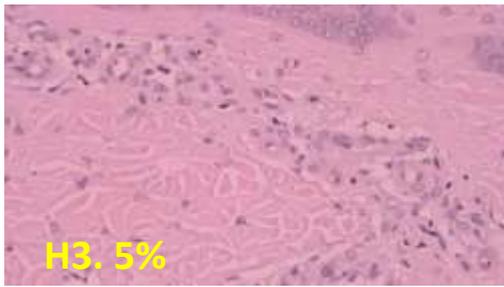
### 3. GAMBARAN HISTOLOGI HEWAN UJI PENGAMATAN HARI KE-14



Perubahan Jumlah Sel Fibroblas Setelah aplikasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* rerata hari ke-14 pada hewan coba 1



Perubahan Jumlah Sel Fibroblas Setelah aplikasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* rerata hari ke-14 pada hewan coba 2



Perubahan Jumlah Sel Fibroblas Setelah aplikasi krim ekstrak *Chlorella vulgaris* rerata hari ke-14 pada hewan coba 3

## LAMPIRAN 7

### REKOMENDASI PERSETUJUAN ETIK

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
RUMAH SAKIT GIGI DAN MULUT  
KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN  
Sekretariat : Lantai 2, Gedung Lama RSGM Unhas  
Jl. Kande No. 5 Makassar  
Contact Person: drg. Muhammad Ihsal, Sp.Pros.Kyu Tjpmawati TELF. (081)4297001/08119444438

**REKOMENDASI PERSETUJUAN ETIK**  
Nomor: 0132/PL.09/KEPE FEG-RSGM UNHAS/2019  
Tanggal: 01 April 2019

Dengan ini menyatakan bahwa protokol dan dokumen yang berhubungan dengan protokol berikut ini telah mendapatkan persetujuan etik:

No. Protokol	UH.17120137	No Protokol Sponsor	
Peneliti Utama	1. drg. Rustan Ambo Ase 2. drg. Andi Ajmal 3. drg. Edwina Lesal 4. drg. Rizky Khamdani 5. drg. Sutyo 6. drg. Yonathan Goan 7. drg. Irsal Wahyudi	Sponsor	Prisadi
Judul Penelitian	Pengaruh Penambahan Ekstrak Seduan <i>Clavella Vulgaris</i> Gel, Krim dan Salep terhadap Bone Remodelling Posa Implantasi		
No. Versi Protokol	1	Tanggal Versi	19 Maret 2019
No. Versi Protokol		Tanggal Versi	
Tempat Penelitian	Laboratorium Farmasetika Unhas, Laboratorium Kesehatan Hewan Unhas, Balai Besar Veteriner, Laboratorium Fisika UNM		
Dokumen Lain			
Jenis Review	<input type="checkbox"/> Exempted <input checked="" type="checkbox"/> Expedited <input type="checkbox"/> Fullboard	Masa Berlaku 01 April 2019	Frekuensi Review Lanjutan
Ketua Komisi Etik Penelitian	Nama: Dr. drg. Marhamah, M.Kes	Tanggal	
Sekretaris Komisi Etik Penelitian	Nama: drg. Muhammad Ihsal, Sp.Pros	Tanggal	

**Kewajiban peneliti utama:**

- Menyerahkan Amandemen Protokol untuk persetujuan sebelum diimplementasikan
- Menyerahkan laporan SAE ke Komisi Etik dalam 24 jam dan dilengkapi dalam 7 hari dan lapor SUSAR dalam 72 jam setelah peneliti utama menerima laporan.
- Menyerahkan laporan kemajuan (*progress report*) setiap 6 bulan untuk penelitian resiko tinggi dan setiap setahun untuk penelitian resiko rendah.
- Menyerahkan laporan akhir setelah penelitian berakhir.