

**PENGARUH *CHLORELLA VULGARIS* GEL KONSENTRASI 15% TERHADAP  
PROSES PENYEMBUHAN LUKA JARIANGAN LUNAK PASCA EKSTRAKSI  
GIGI PADA PERAWATAN DENGAN *IMMEDIATE DENTURE***

**SKRIPSI**

*Diajukan kepada Universitas Hasanuddin Untuk Melengkapi  
Salah Satu Syarat Mencapai Gelar Sarjana Kedokteran Gigi*



**NUR ALIYAH  
J011201166**

**DEPARTEMEN PROSTODONSIA  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2023**

**PENGARUH *CHLORELLA VULGARIS* GEL KONSENTRASI 15% TERHADAP  
PROSES PENYEMBUHAN LUKA JARIANGAN LUNAK PASCA EKSTRAKSI  
GIGI PADA PERAWATAN DENGAN *IMMEDIATE DENTURE***

**SKRIPSI**

*Diajukan kepada Universitas Hasanuddin Sebagai Salah Satu Syarat  
untuk Mencapai Gelar Sarjana Kedokteran Gigi*

**NUR ALIYAH  
J011201166**

**DEPARTEMEN PROSTODONSIA  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2023**

## LEMBAR PENGESAHAN

Judul : Pengaruh *Chlorella Vulgaris* Gel Konsentrasi 15% Terhadap Proses  
Penyembuhan Luka Jaringan Lunak Pasca Ekstraksi Gigi Pada Perawatan Dengan  
*Immediate Denture*.

Oleh : Nur Aliyah/ J011201166

Telah Diperiksa dan Disahkan

Pada Tanggal 27 November 2023

Oleh :

Pembimbing



**Prof. Dr. Edy Machmud, drg., Sp.Pro., Subsp., OGST (K).**  
NIP.196311041994011001

Mengetahui,

↳ Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Hasanuddin



**drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D**

NIP. 198102152008011009

## SURAT PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan mahasiswa yang tercantum di bawah ini:

Nama : Nur Aliyah

NIM : J011201166

Judul : Pengaruh *Chlorella Vulgaris* Gel Konsentrasi 15% Terhadap  
Penyembuhan Luka Jaringan Lunak Pasca Esktraksi Gigi Pada Perawatan Dengan  
*Immediate Denture*.

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul yang diajukan adalah judul baru dan tidak terdapat  
di Perpustakaan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.

Makassar, 27 November 2023

Koordinator Perpustakaan FKG Unhas



NIP. 19661121 199201 1 003

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nur Aliyah

NIM : J011201166

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Pengaruh *Chlorella Vulgaris* Gel Konsentrasi 15% Terhadap Penyembuhan Luka Jaringan Lunak Pasca Esktraksi Gigi Pada Perawatan Dengan *Immediate Denture*.” benar merupakan karya saya. Judul skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi. Jika di dalam skripsi ini terdapat informasi yang berasal dari sumber lain, saya nyatakan telah disebutkan sumbernya di dalam daftar pustaka.

Makassar, 27 November 2023



## HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI PEMBIMBING

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Pembimbing:

Tanda Tangan

1. Prof. Dr. Edy Machmud, drg., Sp.Pros., Subsp., OGST (K).

(  )

Judul Skripsi:

Pengaruh *Chlorella Vulgaris* Gel Konsentrasi 15% Terhadap Penyembuhan Luka Jaringan Lunak Pasca Ekstraksi Gigi Pada Perawatan Dengan *Immediate Denture*.

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul seperti tersebut di atas telah diperiksa, dikoreksi dan disetujui oleh pembimbing untuk dicetak dan/atau diterbitkan.

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur saya panjatkan kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala, karena berkat rahmat dan ridha-Nya yang senantiasa memberikan kemampuan dan kelancaran kepada penulis sehingga skripsi yang berjudul “*Chlorella Vulgaris* Konsentrasi Gel 15% Sebagai Obat Luka Post Ekstraksi Untuk Pembuatan *Immediate Denture*” sebagai salah satu syarat kelulusan dapat terselesaikan. Shalawat serta salam tak lupa pula penulis haturkan kepada Nabiullah Muhammad SAW. yang merupakan sebaik-baiknya suri teladan.

Selama proses penyusunan skripsi ini tentunya tidak luput dari bimbingan, dukungan, dan bantuan dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu menyelesaikan skripsi ini, yaitu kepada:

1. drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed.,Ph.D selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
2. Prof. Dr. Edy Machmud, drg., Sp.Pros., Subsp., OGST (K). selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing serta memberikan arahan dan saran kepada penulis selama proses penyusunan dan penyelesaian skripsi ini.
3. Dr. Ike Damayanti Habar, drg., Sp.Pros., Subsp., PKIKG (K). dan Prof. Moh. Dharmautama, drg., Ph.D., Sp.Pros., Subsp., PKIKG (K). selaku dosen penguji skripsi yang telah memberikan masukan, arahan, kritik, dan saran kepada penulis dalam penyempurnaan skripsi ini.
4. Seluruh dosen, staf akademik, staf tata usaha, staf perpustakaan FKG Unhas, dan staf rekam medik RSGMP Universitas Hasanuddin, khususnya Kak Eka yang telah banyak membantu penulis selama menjalani proses penyelesaian skripsi ini.
5. Kedua orang tua penulis, Alm. Ir. Sismawati dan Drs. Suherman, ketiga saudara penulis, Nur Afifah S. Ft.,Ftr., Bripda. Muhammad Ghufuran, Nur

Amni Zakirah yang selalu membantu, memotivasi, mendukung, dan mendoakan penulis.

6. Teman-teman terdekat penulis, 911 Aleksandra Deviana, Zahrah Ilham Rivai dan Nurul Aisyah Mutiarani yang selalu memberikan semangat dan dukungan selama perkuliahan dan penyusunan skripsi ini terkhusus untuk Aleksandra Deviana yang senantiasa membantu dalam segala hal kepada penulis.
7. Segenap keluarga besar seperjuangan Artikulasi 2020 atas bantuan dan dukungan yang telah diberikan kepada penulis.
8. Teman-Teman terdekat penulis, Mau ayo (Elvira Putri P, Meyke Theresia, Ruthtri Agil, yang telah memberikan semangat dan dukungan pada penulis dari dulu hingga saat ini.
9. Teman-teman terdekat penulis, Otw M (Deviana Windy Mangiri, Esty Boyong, Elza Imelda Maharani), yang telah memberikan semangat dan dukungan pada penulis dari dulu hingga saat ini.
10. Sahabat penulis Defianti yang telah membrikan semangat, dukungan dan bantuan pada penlis dari dulu hingga saat ini.
11. Teman-teman terdekat penulis, Rumah Belajar (Zakirah Taqiani, Arfifah Armin, Putri Zhafirah, Muchlisa, Aini Intan, Adilah Fauziah, Azzahrah ), yang telah memberikan semangat dan dukungan pada penulis dari dulu hingga saat ini.
12. Teman-teman tim penelitian penulis, Nahda Syafiah dan Rafli Mulham, yang telah berkerjasama dan saling memberikan semangat dari awal penelitian hingga saat ini.
13. Keluarga penulis, Riska Widiya Ningsih, Resma Fatri Santi, dan Fadilah Rahmayanti yang telah memberikan semangat dan dukungan pada penulis dari dulu hingga saat ini.
14. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah memberikan dukungan dan bantuane sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

## ABSTRAK

### **PENGARUH CHLORELLA VULGARIS GEL KONSENTRASI 15% TERHADAP PROSES PENYEMBUHAN LUKA JARINGAN LUNAK PASCA EKSTRAKSI GIGI PADA PERAWATAN DENGAN IMMEDIATE DENTURE**

**Latar Belakang :** Pencabutan gigi seringkali menyebabkan pasien takut karena akan mengalami periode kehilangan gigi, pasien akan merasa tidak dapat makan dengan baik, berbicara dengan benar bahkan kehilangan kepercayaan diri. Sehingga akan mengganggu aktivitas pasien. Perawatan dengan gigi tiruan tidak perlu ditunda, telah ditemukan metode untuk mengatasi hal tersebut di atas yaitu dengan pembuatan gigi tiruan *Immediate*. *Immediate denture* berfungsi sebagai protesa yang di pengaruhi fungsi estetik, fungsi pengunyahan dan dukungan psikologis pasien pasca pencabutan sampai dengan proses penyembuhan. Pada kasus pencabutan gigi dan pemasangan *immediate denture*, 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 *Immediate denture* melibatkan proses penyembuhan pada jaringan lunak. **Tujuan:** untuk mengetahui pengaruh *Chlorella vulgaris* gel konsentrasi 15% sebagai gel terhadap penyembuhan luka jaringan lunak pasca ekstraksi pada perawatan dengan *Immediate denture*. **Metode :** Metode penelitian yang akan dilakukan merupakan eksperimental laboratoris pada babi dengan rancangan penelitian eksperimental studi penelitian murni. *Experimental study* merupakan kegiatan penelitian yang melakukan intervensi atau pemberian perlakuan dan meneliti pengaruh perlakuan serta mengharapkan suatu perubahan. Hasil : Hasil penelitian ini bahwa *Chlorella vulgaris* dapat digunakan secara topikal untuk mengobati luka pasca ekstraksi gigi . Dalam bidang prostodontia penggunaan *Chlorella vulgaris* dapat digunakan sebagai pengobatan dalam mempercepat penyembuhan luka pasca pencabutan gigi pada perawatan dengan gigi tiruan *Immediate*. Pada pembuatan gigi tiruan *Immediate* yaitu gigi tiruan yang dibuat terlebih dahulu, kemudian baru dipasang setelah pencabutan gigi. Keadaan ini terjadi karena setelah pencabutan gigi, trauma pencabutan gigi menyebabkan inflamasi. Dalam hal ini penggunaan *Chlorella vulgaris* mempunyai keuntungan tambahan selain mempercepat penyembuhan luka pasca ekstraksi, permemberiannya yang mudah. **Kesimpulan :** Ekstrak *Chlorella vulgaris* gel konsentrasi 15% memiliki pengaruh terhadap penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi pada perawatan dengan *Immediate denture*.

**Kata kunci :** *Chlorella vulgaris*, luka jaringan lunak, *Immediate denture*.

## ABSTRACT

**Background :** *Tooth extraction often causes patients to be afraid because they will experience a period of tooth loss, patients will feel unable to eat well, speak properly and even lose self-confidence. So it will disrupt the patient's activities. Treatment with dentures does not need to be postponed, a method has been found to overcome the above problem, namely by making immediate dentures. Immediate denture functions as a prosthesis which is influenced by the aesthetic function, masticatory function and psychological support of the patient after extraction until the healing process. In the case of tooth extraction and immediate denture installation, inflammation can occur due to the trauma of removing and installing implants, this action can result in disruption of tissue continuity and tissue damage which is called a wound. Healing wounds after tooth extraction and immediate denture installation involves a healing process in the soft tissue.*

**Purpose :** *to determine the effect of 15% concentration of chlorella vulgaris gel as a gel on post-extraction soft tissue wound healing in immediate denture treatment.*

**Methods :** *The research method that will be carried out is a laboratory experiment on pigs with a pure experimental research study design. Experimental study is a research activity that carries out intervention or provides treatment and examines the effect of treatment and hopes for a change.*

**Results :** *The results of this research show that Chlorella vulgaris can be used topically to treat post-tooth extraction wounds. In the field of prosthodontics, Chlorella vulgaris can be used as a treatment to accelerate wound healing after tooth extraction in Immediate denture treatment. In making Immediate dentures, dentures are made first, then installed after tooth extraction. This situation occurs because after tooth extraction, the trauma of tooth extraction causes inflammation. In this case, the use of Chlorella vulgaris has additional advantages apart from accelerating post-extraction wound healing, its administration is easy.*

**Conclusion:** *Chlorella vulgaris gel extract with a concentration of 15% has an effect on post-extraction wound healing in Immediate denture treatment.*

**Keywords:** *Chlorella vulgaris, soft tissue injuries, Immediate denture*

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>SURAT PERNYATAAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>PERNYATAAN</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING</b> .....	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR GRAFIK</b> .....	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xviii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1

1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>7</b>
2.1 <i>Immediate denture</i> .....	7
2.1.1 Definisi <i>Immediate Denture</i> .....	7
2.1.2 Jenis <i>Immediate Denture</i> .....	7
2.1.3 Keuntungan <i>Immediate Denture</i> .....	9
2.1.4 Kerugian <i>Immediate Denture</i> .....	9
2.2 Proses Penyembuhan Luka Ekstraksi Gigi .....	12
2.3 <i>Chlorella vulgaris</i> .....	18
2.3.1 Deskripsi <i>Chlorella Vulgaris</i> .....	19
2.3.2 Taksonomi <i>Chlorella Vulgaris</i> .....	19
2.3.3 Fisiologi <i>Chlorella Vulgaris</i> .....	20
2.3.4 Morfologi <i>Chlorella Vulgaris</i> .....	20
2.3.5 Metabolisme <i>Chlorella Vulgaris</i> .....	21
2.3.6 Kandungan <i>Chlorella Vulgaris</i> .....	22
2.4 Sediaan Gel .....	26
2.4.1 Definisi Gel .....	26
2.4.2 Penggolongan Gel .....	26
2.4.3 Sifat Gel .....	27
2.4.4 Keuntungan Gel .....	28
2.5 Hewan Uji .....	30
2.5.1 Prinsip dan Kriteria .....	31
2.5.2 Babi Landrace .....	32
2.6 Parameter Penyembuhan luka.....	33
<b>BAB III KERANGKA TEORI DAN KONSEP .....</b>	<b>36</b>
3.1 Kerangka Konsep.....	36
3.2 kerangka Teori .....	37
3.3 Hipotesis Penelitian.....	38

<b>BAB IV METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>39</b>
4.1. Jenis Penelitian.....	39
4.2. Desain penelitian.....	39
4.3. Waktu dan tempat penelitian.....	39
4.4. Sampel penelitian.....	39
4.5. Perhitungan besar sampel .....	40
4.6. Variabel penelitian .....	41
4.7. Definisi oprasional .....	41
4.8. Alat dan bahan .....	42
4.9. Rencana penelitian .....	42
4.10. Alur Penelitian.....	47
<b>BAB V HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>48</b>
5.1. Hasil Uji Formulasi gel <i>Chlorella Vulgaris</i> .....	48
5.2. Hasil Pemeriksaan Leukosit dan Eritosit .....	50
5.3. Grafik Hasil Pemeriksaan Darah pada Leukosit dan Eritosit Dengan Aplikasi <i>Chlorella Vulgaris</i> .....	48
5.4. Grafik Hasil Pemeriksaan Darah pada Leukosit dan Eritosit Tanpa Aplikasi <i>Chlorella Vulgaris</i> .....	48
<b>BAB VI PEMBAHASAN.....</b>	<b>60</b>
<b>BAB VII PENUTUP.....</b>	<b>70</b>
7.1. Simpulan .....	70
7.2. Saran.....	70
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>71</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Perbandingan Konvensional <i>Immediate Denture</i> dan Interim <i>Immediate Denture</i> .....	9
Tabel 5.2.1 Hasil pemeriksaan darah pada peukosit dengan aplikasi <i>Chlorella vulgaris</i> .....	51
Tabel 5.2.2 Hasil pemeriksaan darah pada leukosit tanpa aplikasi <i>Chlorella vulgaris</i> .....	54
Tabel 5.2.3 Hasil pemeriksaan darah pada eritrosit dengan aplikasi <i>Chlorella vulgaris</i> .....	54
Tabel 5.2.4 Hasil pemeriksaan darah pada eritrosit tanpa aplikasi <i>Chlorella vulgaris</i> .....	58

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Tahap penyembuhan luka rongga mulut .....	13
Gambar 2 Struktur <i>Chlorella Vulgaris</i> .....	19
Gambar 3 Jenis Babi Landrace .....	31
Gambar 4 Anatomi Gigi Babi Landrace .....	33

## DAFTAR GRAFIK

Grafik 5.1 Grafik Daya Sebar Sediaan.....	48
Grafik 5.2 Grafik nilai pH.....	49
Grafik 5.3 Grafik Viskositas Sediaan .....	50
Grafik 5.4 Grafik Hasil Pemeriksaan Darah pada Leukosit dan Eritrosit dengan Pengaplikasian <i>Chlorella vulgaris</i> .....	59
Grafik 5.5 Grafik Hasil Pemeriksaan Darah pada Leukosit dan Eritrosit Tanpa Pengaplikasian <i>Chlorella vulgaris</i> .....	59

## **DAFTAR LAMPIRAN**

1. Gambar Penelitian
2. Undangan Seminar Proposal
3. Surat Rekomendasi Persetujuan Etik
4. Surat Undangan Seminar Hasil
5. Kartu Kontrol

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Permasalahan gigi dan mulut khususnya pada kehilangan gigi akan berdampak pada penurunan fungsi rongga mulut terutama pada fungsi pengunyahan. Hal ini menjadi salah satu permasalahan kesehatan rongga mulut yang banyak dialami oleh masyarakat di dunia. Berdasarkan *The Global Burden of Disease Study 2016* masalah kesehatan gigi dan mulut khususnya kehilangan gigi merupakan penyakit yang dialami hampir dari setengah populasi penduduk dunia (3,58 milyar jiwa).<sup>2</sup> Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018 menunjukkan peningkatan signifikan kasus kehilangan gigi berdasarkan usia yaitu 1,7 % pada kelompok usia 35-44 dan 10,1% pada kelompok usia lebih dari 65 tahun ke atas.<sup>2,3</sup>

Pencabutan gigi seringkali menyebabkan pasien takut karena akan mengalami periode kehilangan gigi, pasien akan merasa tidak dapat makan dengan baik, berbicara dengan benar bahkan kehilangan kepercayaan diri. Sehingga akan mengganggu aktivitas pasien. Dengan berkembangnya Teknik pencetakan dan bahan gigi, perawatan dengan gigi tiruan tidak perlu ditunda, telah ditemukan metode untuk mengatasi hal tersebut di atas yaitu dengan pembuatan gigi tiruan *immediate*.<sup>5</sup>

Saat ini pasien dengan status ekonomi yang tinggi sangat mementingkan kebutuhan estetik pada . Untuk mencegah masa kehilangan gigi yang lama akibat pasca pencabutan maka *treatment immediate denture*

merupakan treatment terbaik. *Immediate denture* adalah salah satu protesa gigi tiruan yang dipaangkan sesegar mungkin sesaat setelah pencabutan beberapa gigi asli dilakukan.<sup>4</sup>

*Immediate denture* berfungsi sebagai protesa yang di pengaruhi fungsi estetik, fungsi pengunyahan dan dukungan psikologis pasien pasca pencabutan sampai dengan proses penyembuhan.<sup>4</sup>

Pada kasus pencabutan gigi dan pemasangan *immediate denture*, 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 *immediate denture* melibatkan proses penyembuhan pada jaringan lunak yaitu jaringan ikat dan epitel gingiva. 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 dan tindakan pencabutan gigi.<sup>5</sup>

*Chlorella vulgaris* merupakan mikrolalga yang termasuk dalam kelas *Chlorophyceae*, memiliki nilai gizi yang baik dan senyawa-senyawa bioaktif alami seperti karotenoid, senyawa fenol, sulfat polisakarida dan vitamin yang salah satu fungsi dari senyawa bioaktif tersebut dapat memengaruhi regulasi sel, respon kekebalan tubuh dan sebagai antioksidan.<sup>7</sup> *Chlorella* mengandung klorofil dan *Chlorella Growth Faktor* (CGF) sehingga mampu membersihkan dan mempercepat penyembuhan luka jika dioleskan.

Selain itu, chlorella juga membantu mempromosikan penyembuhan tukak kulit diabetic akibat peningkatan produksi fibroblas yang membantu tubuh memperbaiki luka. Konsumsi chlorella secara teratur selama periode waktu yang lama dapat meningkatkan kemampuan tubuh untuk menyembuhkan dirinya sendiri dari luka tanpa perlu menerapkannya secara eksternal. Beberapa dokter Jepang telah menunjukkan bahwa bisul sembuh dengan cepat dan luka yang tidak responsif terhadap berbagai obat dan perawatan akhirnya sembuh ketika pasien menggunakan Chlorella dan Chlorella Growth Faktor (CGF) dosis oral. Studi-studi lain telah mengungkapkan bahwa Chlorella Growth Faktor (CGF) merangsang sel-sel tumbuhan dan hewan untuk bereproduksi lebih cepat, yang membantu mempercepat penyembuhan.<sup>7</sup>

*Chlorella vulgaris* diduga memunyai 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>6</sup>

*Chlorella* juga diduga dapat berperan sebagai zat anti inflamasi 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.<sup>6</sup>

Universitas Hasanuddin (Unhas) sesuai dengan Visi Unhas berbasis pada Benua Maritim Indonesia (BMI) telah banyak dikembangkan penelitian tentang biota laut. Salah satu biota laut dari perairan Indonesia adalah *Chlorella vulgaris* yang ternyata dapat digunakan sebagai bahan bioaktif dalam mempercepat proses penyembuhan luka. *Chlorella vulgaris* merupakan mikroalga yang tumbuh di perairan Indonesia dan berkembang biak sangat cepat, sehingga apabila tidak dimanfaatkan dengan baik maka akan menumpuk dan menjadi sampah.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh tim FKG Unhas membahas komponen *chlorella vulgaris* yang mampu mengobati jaringan yang rusak terutama pasca pencabutan gigi. Dimana terdapat 4 komponen *chlorella vulgaris* yang dapat memperbaiki jaringan yang rusak yaitu klorofil, dinding sel,  $\beta$ -karoten, dan *chlorella growth factor*. Dan telah dibuktikan bahwa ekstrak gel *chlorella vulgaris* memiliki berbagai kandungan aktif yang dapat mendukung proses penyembuhan luka pada kulit telinga babi secara progresif.

Hasil penelitian in vivo yang dilakukan oleh Astriani dkk, telah

mebutikan bentuk sediaan ekstrak *chlorella vulgaris* dalam bentuk salep, krim dan gel memberikan pengaruh terhadap penyembuhan mukosa mulut hewan uji.

Bentuk sediaan topikal yang mudah diaplikasikan dengan dasar yang baik dapat mempengaruhi pencapaian angka kesembuhan yang optimal untuk pengobatan setiap hari untuk pengobatan luka bagian luar dan dapat digunakan sebagai obat oles diluar mulut. Sediaan gel *chlorella vulgaris* 15% dapat digunakan sebagai obat dalam rongga mulut berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Putri Alpiyanti. Penelitian tersebut masih penelitian awal, dan belum banyak dilakukan, sehingga peneliti tertarik untuk mengkaji lebih lanjut pengaruh dari ekstrak gel *Chlorella Vulgaris* 15% sebagai obat luka jaringan lunak pasca ekstraksi gigi untuk perawatan *immediate denture* yang dilakukan pada hewan uji.

## **1.2 Rumusan masalah**

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan maka didapatkan rumusan masalah yaitu:

1. Bagaimana pengaruh pengaplikasian gel *chlorella vulgaris* konsentrasi 15% terhadap penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi pada perawatan dengan *immediate denture*?
2. Bagaimana ekstrak gel *chlorella vulgaris* konsentrasi 15% dalam mempercepat penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi pada perawatan dengan *immediate denture*?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

a) Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh *chlorella vulgaris* gel konsentrasi 15% sebagai gel terhadap penyembuhan luka jaringan lunak pasca ekstraksi pada perawatan dengan *immediate denture*.

b) Tujuan Khusus

Untuk mengetahui pengaruh ekstrak *chlorella vulgaris* gel konsentrasi 15% dalam mempercepat proses penyembuhan luka jaringan lunak pasca ekstraksi gigi pada perawatan dengan *immediate denture*.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan mengenai ekstrak *chlorella vulgaris* dan dapat mengembangkan sumber daya Indonesia sesuai visi Universitas Hasanuddin yakni Benua Maritim Indonesia (BMI).
2. Hasil penelitian ini diharapkan ekstrak *chlorella vulgaris* dapat menjadi bahan alternatif untuk penyembuhan luka jaringan lunak pasca ekstraksi gigi pada perawatan dengan *immediate denture*.
3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu bahan bacaan yang dapat memperkaya ilmu pengetahuan di bidang kedokteran gigi untuk kesehatan gigi dan mulut.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 *Immediate denture***

##### **2.1.1 Definisi *immediate denture***

Gigi tiruan *immediate* adalah gigi tiruan yang proses pemasangannya dilakukan langsung setelah pencabutan gigi dalam mulut pasien, sehingga pasien tidak merasakan fase edentulous. Pada keadaan normal, menyediakan perawatan gigi tiruan *immediate* adalah cara paling efektif untuk membuat transisi yang baik dari gigi pasien ke gigi tiruan. Pembuatan gigi tiruan *immediate* sendiri bukanlah suatu hal yang baru. Pada awal 1860, Richardson memperkenalkan pertama kali pembuatan gigi tiruan *immediate*. Saat ini, gigi *immediate* telah menjadi kebutuhan untuk mencegah kesulitan pengunyahan, kecemasan dan estetika bagi banyak orang.<sup>8</sup>

Gigi tiruan *immediate* menyediakan pilihan perawatan yang efektif dan teruji pada beberapa kasus dengan rencana perawatan dan prosedur perawatan yang tepat. Keberhasilan dari prosedur perawatan sangat tergantung dari beberapa faktor, seperti pemilihan kasus, diagnosa, rencana perawatan, prosedur pencabutan yang tepat, gigi tiruan yang baik dan pasien yang kooperatif. Pemilihan kasus memegang peranan penting pada pembuatan gigi tiruan *immediate*. Tidak semua kasus dapat dibuatkan secara *immediate*. Hal ini dapat diidentifikasi melalui pemeriksaan awal. Pasien harus terbebas dari kondisi medis yang dapat membahayakan kesuksesan gigi tiruan *immediate*.<sup>8</sup>

Saat ini pasien dengan status ekonomi yang tinggi sangat mementingkan kebutuhan estetik pada penampilannya. Untuk mencegah masa kehilangan gigi yang lama akibat pasca pencabutan maka treatment immediate denture merupakan treatment terbaik. Immediate denture adalah suatu protesa gigi tiruan yang dipasangkan sesegera mungkin sesaat setelah pencabutan beberapa gigi asli dilakukan. Immediate denture berfungsi sebagai protesa yang dipergunakan untuk memenuhi fungsi estetik, fungsi support pengunyahan dan psikologis pasien pasca pencabutan sampai dengan proses penyembuhan.<sup>4</sup>

*Immediate denture* harus kompatibel dalam rongga mulut baik secara biologis maupun fisiologis, juga berfungsi untuk mengembalikan fungsi mastikasi, bicara dan penelanan senormal mungkin atau mendekati normal. Fungsi bicara dan mastikasi juga dapat terpelihara karena tidak adanya periode edentulous yang lama. Selain itu, dalam segi estetika juga harus kompatibel dan dapat memelihara jaringan rongga mulut.<sup>1</sup>

### **2.1.2 Jenis *immediate denture*<sup>9</sup>**

#### **A. *Conventional immediate denture***

*Immediate denture* jangka panjang, umumnya hanya melibatkan gigi tiruan yang akan mengalami proses pelapisan ulang untuk kemudian digunakan kembali.

#### **B. Interim/ transisi *immediate denture***

*Immediate denture* sementara yang digunakan untuk sementara waktu

hingga proses penyembuhan selesai, dan siap untuk dibuatkan gigi tiruan baru sebagai gigi tiruan kedua.

**Tabel 1.** Perbandingan konvensional immediate denture dan interim immediate denture. <sup>1</sup>

Konvensional immediate dentur	Interim immediate denture
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dikenal sebagai protesa definitif atau jangka Panjang</li> <li>• Setelah penyembuhan sempurna, gigi tiruan tersebut di relining</li> <li>• Semua penampilan pasien biasanya gigi anterior yang tersisa</li> <li>• Biaya yang dikeluarkan untuk perawatan lebih sedikit dibanding interim immediate denture</li> <li>• Proses perawatan lebih lama dari interim karena adanya penundaan 3-4 minggu untuk area</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Protesa tradisional (sementara) atau jangka pendek</li> <li>• Setelah penyembuhan, gigi tiruan kedua akan dibuat. IID tetap dijaga sebagai gigi tiruan cadangan dan dapat di relining agar dapat digunakan sebagai cadangan semua tampilan awal biasanya gigi anterior dan posterior masih ada</li> <li>• Biasanya retensi dan stabilitas kumayan baik saat insersi yang harus ditingkatkan dengan relining sementara selama penyembuhan</li> <li>• Biaya yang dikeluarkan untuk perawatan IID lebih besar dari CID karena termasuk biaya gigi</li> </ul>

<p>ekstaksi posterior sembuh Sebagian sebelum membuat cetakan akhir</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Umumnya diindikasikan hanya untuk kasus gigi anterior yang masih ada sedikit dan tidak mendukung gigi tiruan</li> </ul> <p>Sebagian lepasan</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Umumnya diindikasikan pada pasien yang dapat berfungsi tanpa gigi posterior kira-kira sekitar 3 bulan(3-4 minggu waktu area posterior sembuh ditambah 2 bulan untuk febrikasi dan pemasangan CID.</li> <li>• Pada pemasangan ini biasanya hanya gigi anterior yang diekstraksi (satu premolar pada tiap sisi dipertahankan untuk</li> </ul>	<p>tiruan sementara dan gigi tiruan kedua</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Diindikasikan Ketika ada beberapa gigi anterior atau posterior yang tersisa atau ekstraksi satu rahang dan atau gigi yang mendukung gigi tiruan sebagian lepasan yang pasien harapkan tetap digunakan hingga insersi</li> <li>• Diindikasikan pada pasien yang tidak bisa tanpa gigi posterior atau gigi tiruan sebagian lepasan yang sudah ada sebelumnya karena estetik dan fungsionalnya.</li> <li>• Pada pemasangan IID biasanya baik gigi anterior maupun posterior telah diekstraksi.</li> <li>• Diindikasikan ketika hanya satu kali kunjungan bedah yang dapat dilakukan</li> </ul>
---	--

<p>menjaga dimensi vertikal oklusi</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Diindikasikan Ketika kunjungan dua kali pencabutan dapat dilakukan</li> <li>• Estetik pada CID lebih dapat diterima</li> </ul>	
--	--

### 2.1.3 Keuntungan *immediate denture* <sup>9</sup>

- *Immediate denture* dapat berperan sebagai matriks untuk mencegah terjadinya kontaminasi
- Penderita dapat melanjutkan aktivitas normalnya. Penderita secara perlahan beradaptasi dengan gigi tiruan sambil menunggu penyembuhan. Fungsi bicara dan pengunyahan juga dapat dipertahankan karena tidak adanya periode edentulous yang panjang. Asupan nutrisi yang baik juga tetap terjaga.
- Menghindari periode edentulous jangka pendek yang berarti penampilan pasien tidak berubah.
- Mempertahankan penyangga tonus otot, dimensi vertikal oklusi, hubungan rahang dan tinggi wajah. Lidah, bibir dan pipi juga akan dipertahankan posisinya. Lidah tidak melebar ke samping dan ke belakang melewati alveolar ridge akibat kehilangan gigi.

#### **2.1.4 Kerugian *immediate denture*<sup>9</sup>**

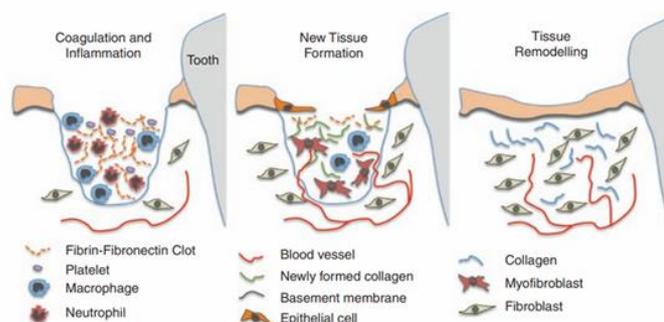
- Resorpsi tulang dan penyusutan jaringan lunak yang sedang dalam proses penyembuhan lebih sering terjadi daripada jaringan lunak yang telah sembuh dengan baik. Hal ini membuat perubahan pada gigi tiruan sehingga membutuhkan prosedur reline.
- Karena prosedur ini lebih sulit dan rumit, maka diperlukan lebih banyak waktu, pertemuan tambahan, sehingga meningkatkan biaya yang tidak dapat dihindari. Ketidakpuasan pasien terhadap posisi gigi atau modifikasi gigi tiruan pasca pemasangan untuk memperbaiki dimensi hubungan vertikal atau sentris mungkin memerlukan pembuatan ulang gigi tiruan.
- Aktivitas fungsional (seperti berbicara dan mengunyah) adalah hal-hal yang terganggu untuk sementara. Meskipun ini hanya merupakan hambatan jangka pendek.

#### **2.2 Proses Penyembuhan Luka Ekstraksi Gigi**

Ekstraksi gigi berakibat luka yang memerlukan beberapa hasil untuk penyembuhan. Luka soket gigi secara fisiologis mengalami proses penyembuhan yang terdiri atas penyembuhan jaringan lunak dan penyembuhan jaringan keras. Jaringan lunak yang mengalami penyembuhan adalah jaringan ikat gingiva dan epitel gingiva. Proses penyembuhan luka baik pada jaringan lunak diawali dengan pembentukan jendalan darah pada soket gigi. Jendalan darah akan berkembang menjadi jaringan granulasi yang mengandung pembuluh darah, fibroblas dan sel-

sel inflamasi. Epitelium akan menutup permukaan jaringan granulasi, debris dan serpihan tulang. Jaringan granulasi akan berkembang menjadi jaringan ikat yang menutup permukaan tulang sehingga tulang pada dinding soket gigi mampu melakukan regenerasi. Suatu luka dikatakan sembuh secara sempurna jika luka telah kembali ke struktur anatomi jaringan, fungsi jaringan, dan penampakan secara normal dalam periode waktu yang sesuai<sup>14,15</sup>

Penyembuhan luka adalah proses yang melibatkan respon seluler dan biokimia, baik secara lokal maupun sistemik dengan proses yang dinamis dan kompleks dari koordinasi serial termasuk koagulasi, inisiasi respon inflamasi akut segera setelah trauma, regenerasi, migrasi, proliferasi jaringan ikat dan sel parenkim, sintesis protein matriks ekstraselular, remodelling parenkim dan jaringan ikat, serta deposisi kolagen. Penyembuhan luka terjadi dalam 4 fase, yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan maturasi atau remodelling.berikut merupakan fisiologi penyembuhan luka:



**Gambar 2.2** tahapan penyembuhan luka di rongga mulut

Saat cedera jaringan lunak rongga mulut terjadi, ada empat tahap penyembuhan luka yang berbeda dan tumpang tindih secara spatiotemporal yang dipertahankan di semua jenis jaringan berupa hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling.<sup>10</sup>

#### 1. Hemostasis

Fase pertama dari penyembuhan luka yaitu fase hemostasis yang berfungsi pertama kali untuk mengurangi kehilangan darah yang banyak pada saat cedera jaringan lunak. Dalam hitungan detik, system kekebalan diaktifkan sebagai akibat dari kerusakan endotel pembuluh darah sehingga pembuluh darah menyempit untuk mencegah perdarahan dan trombosit menempel membentuk sumbat trombosit yang diperkuat oleh polimerisasi fibrin untuk membuat bekuan fibrin dan menutup luka.

#### 2. Inflamasi

Setelah proses hemostasis, luka mengalami infiltrasi inflamasi segera sebagai respons terhadap kemokin di lokasi cedera. Respon inflamasi memuncak pada 24 hingga 48 jam pasca cedera dan dapat berlangsung hingga seminggu. Pada fase awal inflamasi, terdapat lebih sedikit sitokin yang menetap, berkurangnya pembuluh darah dan pembentukan fibroblast lokal yang cepat pada dasar luka. Neutrofil adalah sel yang pertama bermigrasi ke lokasi luka untuk membersihkan komponen ECM yang rusak dan mensekresikan protease seperti matrix metalloproteinase (MMP). Selanjutnya, neutrofil memulai kaskade sekresi sitokin dan faktor pertumbuhan

untuk merekrut sel imun lain, termasuk monosit, yang membantu memulai re-epitelisasi.

Setelah dasar luka bersih dari mikroba, neutrofil keluar dari dasar luka melalui ekstrusi, apoptosis dan fagositosis. Kira-kira 48 hingga 72 jam pasca cedera, monosit bermigrasi ke luka dan berdiferensiasi menjadi makrofag dan berperan sebagai tipe sel dominan selama fase inflamasi penyembuhan luka terutama melalui polarisasi makrofag M1 “pro-inflamasi”. Makrofag mengeluarkan sitokin termasuk interleukin-1, interleukin-6, pertumbuhan fibroblast factor (FGF), platelet-derived growth factor (PDGF), epidermal growth factor (EGF), dan TGF- $\beta$  yang mengatur migrasi sel keratinosit dan fibroblast ke dasar luka.

### 3. Fase proliferasi

Fase proliferasi berlangsung dimulai pada hari ke-3 hingga 14 pasca cedera, ditandai dengan pergantian matriks provisional yang didominasi oleh platelet dan makrofag secara bertahap kemudian digantikan oleh migrasi sel fibroblast dan deposisi sintesis matriks ekstraselular. Terdapat proses utama dalam fase proliferasi: Angiogenesis Proses angiogenesis berperan dalam mempertahankan kelangsungan fungsi berbagai jaringan dan organ yang terkena. Terjadinya hal ini melalui terbentuknya pembuluh darah baru yang menggantikan pembuluh darah yang rusak. Salah satu regulator pro-angiogenik yang paling baik dicirikan adalah faktor pertumbuhan endotel vaskular, protein yang merangsang pembentukan pembuluh

darah dan membantu proliferasi, diferensiasi, dan migrasi sel endotel. Pembentukan pembuluh darah baru ini berasal dari kapiler- kapiler yang muncul dari pembuluh darah kecil di sekitarnya. Jaringan tempat pembentukan pembuluh darah baru terjadi, biasanya terlihat berwarna merah (eritema) karena terbentuknya kapiler kapiler di daerah itu.<sup>11,12</sup>

Fibroblast memiliki peran yang sangat penting dalam fase ini. Fibroblast memproduksi matriks ekstraselular yang akan mengisi kavitas luka dan menyediakan tempat untuk migrasi keratinosit. Matriks ekstraselular inilah yang menjadi komponen yang paling nampak pada bekas luka. Makrofag memproduksi growth factor seperti platelet driven growth factor (PDGF), fibroblast growth factor (FGF) dan transforming growth factor ( $TGF-\beta$ ) yang menginduksi fibroblast untuk berproliferasi, migrasi, dan membentuk matriks ekstraselular.<sup>11,12</sup>

Re-epitelisasi Secara simultan, sel-sel basal pada epitelium bergerak dari daerah tepi luka menuju daerah luka dan menutupi daerah luka. Pada tepi luka, lapisan single layer sel keratinosit akan berproliferasi kemudian bermigrasi dari membran basal ke permukaan luka. Ketika bermigrasi, keratinosit akan menjadi pipih dan panjang dan juga membentuk tonjolan sitoplasma yang panjang. Mereka akan berikatan dengan kolagen tipe I dan bermigrasi menggunakan reseptor spesifik integrin. Kolagenase yang dikeluarkan keratinosit akan mendisosiasi sel dari matriks dermis dan membantu pergerakan dari matriks awal. Sel keratinosit yang telah

bermigrasi dan berdiferensiasi menjadi sel epitel akan bermigrasi di atas matriks provisional menuju ke tengah luka, bila sel-sel epitel ini telah bertemu di tengah luka, migrasi sel akan berhenti dan pembentukan membran basalis dimulai.<sup>11,12</sup>

#### 4. Remodeling

Remodeling adalah fase terakhir dari penyembuhan luka dan terjadi sekitar tiga minggu setelah cedera dan dapat bertahan hingga dua tahun setelah cedera. Pembentukan jaringan granulasi berhenti melalui apoptosis sel. Oleh karena itu, luka yang matang dicirikan sebagai avaskular dan juga aseluler. Selama pematangan luka, komponen extracellular matrix (ECM) mengalami perubahan tertentu.

Kemudian miofibroblast menyebabkan kontraksi luka dengan perlekatan ganda pada kolagen dan membantu mengurangi permukaan bekas luka yang berkembang. Selanjutnya, proses angiogenik berkurang, aliran darah luka menurun, dan aktivitas metabolisme luka melambat dan akhirnya berhenti. ECM provisional sebelumnya bertransisi dari jaringan fibronectin yang longgar menjadi ikatan kolagen yang lebih besar dan padat. Jaringan pembuluh darah yang besar mulai dikurangi dan jaringan fibrilar ECM menjadi struktur yang lebih menyatu. Seiring waktu, sel-sel pada luka, seperti keratinosit dan makrofag terus merombak ECM permanen yang tersisa seiring dengan kembalinya jaringan yang pulih ke keadaan homeostasis.<sup>13,14</sup>

## 2.3 *Chlorella vulgaris*

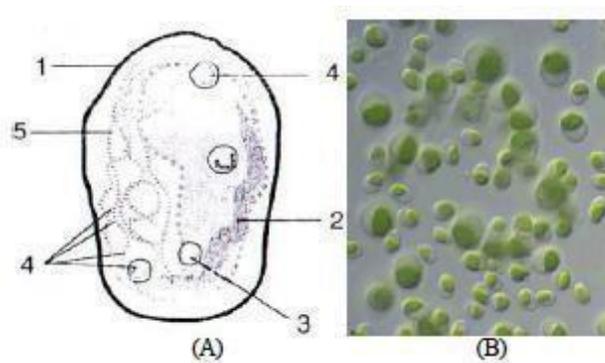
### 2.3.1 Deskripsi *Chlorella Vulgaris*

Mikroalga adalah kelompok tumbuhan mikro yang tergolong dalam alga, dengan diameter antara 3 - 30  $\mu\text{m}$ . Sel tunggal dan koloni hidup di seluruh perairan tawar dan laut, dan biasa disebut fitoplankton. Dalam duniamikroba, mikroalga adalah eukariotik, umumnya bersifat fotosintetik dengan pigmen fotosintetik hijau (klorofil), coklat (fikosantin), biru kehijauan (fikobilin), dan merah (fikoeritrin). salah satu mikroalga yang paling sering ditemukan di perairan Indonesia adalah mikroalga hijau *chlorella vulgaris*.

Hal ini dikarenakan *chlorella vulgaris* dapat berkembang biak dengan cepat, mudah dikulturasi dan memiliki kemampuan bertahan hidup yang tinggi. *Chlorella vulgaris* merupakan spesies dengan kadar lipid yang rendah namun pertumbuhan sel yang tinggi. Pertumbuhan dan pengembangbiakannya yang mudah dan cepat dapat membuat alga mikro ini menguntungkan untuk digunakan dalam berbagai industri seperti makanan, kultur air, kosmetik, farmatikal, serta bahan untuk mengolah limbah air. *Chlorella vulgaris* merupakan alga mikro hijau jenis klorofita atau alga hijau. Pada umumnya alga hijau memiliki biopigmen yaitu klorofil yang digunakan untuk berfotosintesis.<sup>16,17,18</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>17</sup>



**Gambar 2.3** (A) Struktur *chlorella sp.* (1) Dinding sel (2) Kloroplast (3) Inti (4) Inklusi (5) Sitoplasma (B) *Chlorella vulgaris*

(Sumber: TikuYGS. Pengaruh Pemberian Extract *Chlorella Vulgaris* Gel Terhadap Bone Remodeling Pada Pemasangan Implan. Thesis. Makassar: Universitas Hasanuddin, 2018).

### 2.3.2 Taksonomi *Chlorella Vulgaris*<sup>17</sup>

Domain	: <i>Eukaryota</i>
Kingdom	: <i>Protista</i>
Division	: <i>Chlorophyta</i>
Class	: <i>Trebouxiophyceae</i>
Order	: <i>Chlorellales</i>
Family	: <i>Chlorellaceae</i>
Genus	: <i>Chlorella</i>
Spesies	: <i>Chlorella Vulgaris</i>

*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 (*chnes*) atau hidup di antara jaringan *Hydra*.<sup>19</sup>

### 2.3.3 Fisiologi *Chlorella vulgaris*

Mikoralga merupakan organisme aerobik fotosintetik yang ada di mana-mana dan mengandung cukup cahaya, air dan nutrisi sederhana dimana berfungsi untuk memperpanjang hidupnya. Persebaran yang begitu luas dari *Chlorella* sp. Disebabkan karena kemampuan beradaptasi terhadap lingkungan yang tinggi. Daya tahan dan adaptasi yang tinggi merupakan salah satu ciri khas jenis alga ini, salah satu penyebabnya disebabkan karena mempunyai struktur dinding sel yang tebal dan kaku. Mikroalga menyesuaikan bentuk tubuhnya dengan lingkungan. Misalnya, mikroalga laut beradaptasi dengan fluktuasi konsentrasi garam di berbagai bagian lautan. Pigmen fotosintesis memiliki banyak efek.

### 2.3.4 Morfologi *Chlorella vulgaris* <sup>20</sup>

Kata *Chlorella* berasal dari kata "*chloro*" yang berarti hijau dan "*ella*" berarti kecil. *Chlorella vulgaris* adalah mikroalga yang tergolong dalam alga hijau (chlorophyta). Bentuk sel *Chlorella vulgaris* bulat dan elips, serta diameter sel antara 2-8  $\mu\text{m}$ . *Chlorella vulgaris* berkembang biak dengan membelah diri dan membentuk spora. *Chlorella vulgaris* bersifat autotrof, yaitu dapat membentuk makanannya sendiri melalui fotosintesis. Alga *Chlorella* merupakan jenis tumbuhan yang belum memiliki akar, batang dan daun sebenarnya, tetapi sudah memiliki

klorofil sehingga bersifat autotrof. Tubuhnya terdiri dari satu sel (uniseluler), dan ada juga banyak sel (multiseluler). Uniseluler umumnya sebagai fitoplankton, sedangkan multiseluler dapat hidup sebagai nekton, bentos atau perifiton. Habitat mikroalga adalah perairan atau tempat yang lembab, sebagai epifit atau sebagai endofit. Mikroalga berkembang biak dengan cara vegetatif dan generatif.

### 2.3.5 Metabolisme *chlorella vulgaris*<sup>21</sup>

Metabolisme mikroalga *chlorella vulgaris* terbagi menjadi 4, yaitu autotropik, heterotropik, miksotropik, dan fotoheterotropik.

#### a. Autotropik

Metabolisme mikroalga ditandai dengan penggunaan sumber karbon anorganik, yaitu CO<sub>2</sub> dan bikarbonat serta cahaya sebagai energy untuk fotosintesis. Metabolisme ini ada dua macam, yaitu system terbuka dan system tertutup. Metabolisme autotropik system terbuka adalah metode paling umum digunakan dan termudah untuk produksi massal biomassa.

#### b. Heterotropik

Organisme heterogen membutuhkan karbon organik sebagai nutrien karbon dan energi untuk menggantikan cahaya, karena cahaya dihasilkan dari fotobioreaktor tertutup.

#### c. Miksotropik

Metabolisme mikrostropik dilakukan di bawah cahaya atau tanpa cahaya dari sumber karbon organik atau anorganik. Pertumbuhan kultur

sel mikrostropik tidak hanya bergantung pada fotosintesis, tetapi cahaya tidak lagi menjadi faktor pembatas, sehingga cahaya dan sumber karbon organik berpengaruh pada mikroalga.

d. Fotoheterotropik

Kultivasi fotoheterotropik biasanya membutuhkan cahaya dan sumber karbon organik.

### 2.3.6 Kandungan *Chlorella vulgaris*

Kandungan utama dari *Chlorella vulgaris* antara lain adalah:

#### 1. Protein

Protein adalah komposisi yang paling penting dalam ikatan kimia dan komposisi dari mikroalga. 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>21,22</sup>

## 2. Lemak

Dalam kondisi pertumbuhan yang optimal *Chlorella vulgaris* dapat mencapai 5-40% lemak perberat 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>23</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 menjadi gula yang dominan. Pati merupakan polisakarida yang paling banyak pada *Chlorella vulgaris* dan biasanya terletak di kloroplast. Selulosa adalah polisakarida struktural dengan resistensi tinggi dan berada pada dinding sel *Chlorella vulgaris* sebagai barier fibrosa protektif<sup>24,25</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 karotenoid 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>25</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, penambaheritrosit, antioksidan, antibakteria, meningkatkan imunitas, serta pengganti sel-sel yang rusak<sup>26</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 *Chlorellavulgaris* hampir seluruhnya terdiri dari lutein<sup>26</sup>.

#### c) *Chlorella Growth Factor* (CGF)

*Chlorella* sp menghasilkan senyawa bioaktif intraselyang 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>27</sup>.

## 5. Mineral dan vitamin

Kandungan mineral seperti kalsium, zat besi dan vitamin D berperan besar dalam mineralisasi tulang, gigi, dan pengaturan kadar kalsium dan fosfor darah. Fosfor adalah mineral utama tulang dan gigi, yang memberi kekuatan pada jaringan. Semua sel di dalam tubuh mengandung fosfor. Sekitar 66% fosfor di dalam tubuh terdapat pada tulang sebagai ikatan dengan garam kapur serta 33% terdapat di dalam jaringan lunak sebagai ikatan organik dan anorganik. Vitamin D merupakan hormone secosteroid yang sangat penting dalam proses penyerapan kalsium dan mineralisasi tulang. Vitamin D memudahkan penyerapan kalsium dari makanan, merangsang transportasi aktif dengan menginduksi sintesis protein pengikat kalsium pada sel mukosa usus <sup>24</sup>

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

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.

## **2.4 Sediaan gel**

### **2.4.1 Gel**

Gel merupakan formulasi semipadat terdiri dari suspensi yang terbuat dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar. Gel bersifat hidrofobik atau hidrofilik dan memiliki struktur jaringan tiga dimensi. Berdasarkan sifat fase cair, gel dapat dibedakan menjadi dua jenis berbeda yaitu organogel yang mengandung pelarut organik dan hidrogel yang mengandung air. Senyawa basis gel adalah bahan pembentuk gel dalam sediaan. Keuntungan sediaan gel adalah mampu menghantarkan bahan obat dengan baik, mudah merata saat dioleskan pada luka, memberikan sensasi dingin, dan tidak berbekas di kulit <sup>29</sup>

### **2.4.2 Penggolongan Gel**

1. Berdasarkan sifat fasa koloid :
  - a. Gel anorganik, contoh : bentonit magma
  - b. Gel organik, pembentuk gel berupa polimer
2. Berdasarkan sifat pelarut :
  - a. Hidrogel ( pelarut air )

Hidrogel pada umumnya terbentuk oleh molekul polimer hidrofilik yang saling sambung saling melalui ikatan kimia atau gaya kohesi seperti interaksi ionik, ikatan hidrogen atau interaksi hidrofobik. Hidrogel mempunyai biokompatibilitas yang tinggi sebab hidrogel mempunyai tegangan permukaan yang rendah dengan cairan biologi dan jaringan sehingga meminimalkan kekuatan adsorpsi protein dan

adhesi sel; hidrogel menstimulasi sifat hidrodinamik dari gel biological, sel dan jaringan dengan berbagai cara; hidrogel bersifat lembut/lunak, elastis sehingga meminimalkan iritasi karena friksi atau mekanik pada jaringan sekitarnya. Kekurangan hidrogel yaitu memiliki kekuatan mekanik dan kekerasan yang rendah setelah mengembang. Contoh: bentoit magma, gelatin<sup>30</sup>.

b. Organogel (pelarut bukan air/pelarut organik).

Contoh: plastibase (suatu polietilen dengan BM rendah yang terlarut dalam minyak mineral dan digunakan secara *shock cooled*), dan dispersi logam stearat dalam minyak<sup>30</sup>.

c. Xerogel

Gel yang telah padat dengan konsentrasi pelarut yang rendah diketahui sebagai xerogel. Xerogel sering dihasilkan oleh evaporasi pelarut, sehingga sisa-sisa kerangka gel yang tertinggal. Kondisi ini dapat dikembalikan pada keadaan semula dengan penambahan agen yang mengimbibisi, dan mengembangkan matriks gel. Contoh: gelatin kering, tragakan ribbons dan acacia teras, dan selulosa kering dan polystyrene<sup>30</sup>.

### 2.4.3 Sifat Gel

- 1) Idealnya geling agent harus tahan terhadap reaksi kimia, aman, dan tidak dapat beraksi dengan formulasi lainnya.

- 2) Gelling agent harus dapat memproduksi sebuah produk yang berbentuk padat dan mudah dikeluarkan dari wadahnya pada saat waktu penyimpanan.
- 3) Harus memiliki agent antimikroba
- 4) Topikal gel tidak boleh lengket
- 5) Gel ophthalmic harus steril
- 6) Kepadatan gel akan meningkat beriringan dengan kepadatan gel. Akan tetapi peningkatan atau penurunan suhu dapat mempengaruhi kekentalan gel.
- 7) Dapat memunculkan efek yang sama pada saat sediaan padat.
- 8) Setiap komponen harus tersebar secara merata di seluruh gel.
- 9) Fase penyatuan antara gelling agent dan air harus sempurna. Agar gel terbentuk dengan sempurna<sup>30</sup>.

#### **2.4.4 Kegunaan Gel**

1. Untuk pemberian obat secara oral
2. Untuk obat topikal yang diaplikasikan langsung pada kulit, membrane mukosa atau mata.
3. Sebagai obat jangka panjang yang disuntikkan ke dalam tubuh.
4. Sebagai pengikat dalam tablet granula, sebagai bahan pengental cairan oral.
5. Dalam kosmetik seperti shampoo, parfum, pasta gigi, produk perawatan kulit dan rambut.
6. Basis untuk tes alergi

7. Gel NaCl untuk elektrokardiografi
8. Gel sodium fluoride dan asam fosforid perawatan gigi dan mulut profilaksi.

Gel mempunyai potensi lebih baik sebagai sarana untuk mengolah obat topikal dibandingkan dengan sediaan lain. Karena gel tidak lengket, memerlukan energi yang tidak besar untuk formulasi, stabil, dan mempunyai estetika yang baik. Sediaan gel yang baik dapat diperoleh dengan cara memformulasikan beberapa jenis bahan pembentuk gel, namun yang paling penting yang harus diperhatikan adalah pemilihan gelling agent. Dalam formulasi gel, komponen gelling agent merupakan factor kritis yang dapat mempengaruhi sifat fisika gel yang dihasilkan. Gelling agent yang umumnya di pakai yaitu hidroksi propil metal selulosa dan karboner <sup>30</sup>.

Sediaan gel lebih banyak digunakan karena rasa dingin dikulit, mudah mengering, mudah dicuci. Bahan pembentuk gel yang bisa digunakan adalah carbopol 940, Na-CMC dan HPMC. Gelling agent tersebut banyak digunakan dalam produk kosmetik dan obat karena memiliki stabilitas dan kompatibilitas yang tinggi, toksisitas yang rendah, serta mampu meningkatkan waktu kontak dengan kulit sehingga meningkatkan efektivitas penggunaan gel sebagai antibakteri <sup>30</sup>.

Gel merupakan sediaan semipadat yang jernih, tembus cahaya dan mengandung zat aktif. Komponen penting dalam sediaan gel adalah gelling agent, dalam formulasi sebuah gel umumnya digunakan karbopol,

gom xanthan dan turunan selulosa seperti karboksimetil selulosa (CMC) dan hidrokispropimetil selulosa (HPMC) sebagai gelling agent. Karboksimetil selulosa natrium (CMC Na) merupakan basis gel yang banyak dipilih sebagai basis sediaan topikal karena kekuatan perlekatannya yang cukup baik dengan kulit<sup>30</sup>

## **2.5 Hewan Uji**

### **2.5.1 Prinsip dan Kriteria**

Pada prinsipnya jenis hewan yang digunakan untuk uji toksisitas harus dipertimbangkan berdasarkan sensitivitas, cara metabolisme sediaan uji yang serupa dengan manusia, kecepatan tumbuh serta mudah tidaknya cara penanganan sewaktu dilakukan percobaan. Hewan pengerat merupakan jenis hewan yang memenuhi persyaratan tersebut diatas, sehingga paling banyak digunakan pada uji toksisitas. Hewan yang digunakan harus sehat; asal, jenis dan galur, jenis kelamin, usia serta berat badan harus jelas<sup>31</sup>.

### **2.5.2 Babi Landrace**

Babi landrace merupakan babi yang berasal dari Denmark . Termasuk tipe bacon yang berkualitas tinggi, dan memiliki pertumbuhan yang cepat . Babi ini merupakan hasil persilangan antara pejantan Yorkshire dengan induk lokal. Babi Landrace sangat populer sehingga dikembangkan juga di Amerika Serikat, Australia, dan Indonesia, yakni American Landrace dan Australian Landrace. Babi ini terkenal sangat profilik hingga kini babi ini juga yang terbukti paling banyak per

kelahiran, serta presentase dagingnya tinggi. Tulang rusuknya 1617 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>32</sup>



Gambar 2.4. Jenis Babi Landrace

Sumber :Dental Anatomi of Pig. Vivo Pathophysiology.

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>32,33</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>32,33</sup>.

Gigi kaninus jenisnya hipsodont (Gigi yang memiliki mahkota yang tinggi/panjang contohnya pada gigi kuda), sifatnya lebih khusus dibandingkan gigi brachyodont. 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 radicular.<sup>32,33</sup>

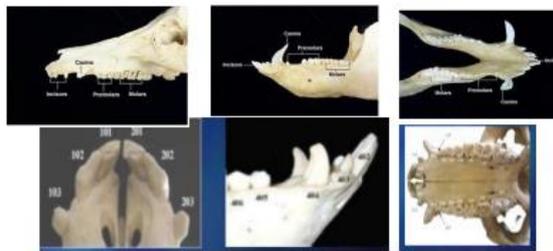
Babi sebagai mamalia lokal memiliki dua jenis gigi:

✓ Gigi geligi primer, desidui, temporer atau susu. 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)

Adapun tabel masa erupsi gigi babi Landrace adalah

Dental Formulae			
Deciduous	$\frac{3 \ 1 \ 3}{3 \ 1 \ 3} = 14$	Permanent	$\frac{3 \ 1 \ 4 \ 3}{3 \ 1 \ 4 \ 3} = 22$
Tooth Eruption			
	Deciduous	Permanent	
Incisors	Birth - 2 weeks	8 - 18 months	
Canines	Birth	8 - 12 months	
Premolars	2 weeks - 8 month	12 - 16 months	
Molars		4 - 22 months	



Sumber :Sánchez F, Velasco C. Morphology Of The Dental Arcade In Adult

Pigs (*Sus scrofa domestica*).Clinical Veterineria Rio Duero.

## 2.6 Parameter penyembuhan luka

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). Hasil pemeriksaan sel darah merupakan parameter penyembuhan luka yang paling umum digunakan untuk menilai progress kesembuhan luka. Hal ini karena kedua parameter tersebut terlibat dalam proses yang penting dalam proses penyembuhan luka. Pemeriksaan sel darah merupakan pemeriksaan yang sering dilakukan laboratorium klinik. Hal ini disebabkan peranannya yang penting dalam membantu melihat proses penyembuhan luka.

Leukosit merupakan salah satu bagian dari susunan sel darah yang memiliki peranan utama dalam hal sistem imunitas atau membunuh kuman dan bibit penyakit yang ikut masuk ke dalam aliran darah. Sel darah putih atau yang juga dapat disebut dengan leukosit. Leukosit dibagi menjadi lima jenis tipe berdasarkan bentuk morfologinya yaitu basofil, eosinofil, neutrofil, limfosit dan monosit. Neutrofil, limfosit dan makrofag adalah sel yang pertama kali mencapai daerah luka. Fungsi utamanya adalah melawan infeksi dan membersihkan debris matriks seluler dan benda-benda asing. Agen kemotaktik seperti produk bakteri, yaitu DAMP (Damage Associated Molecules Pattern) dan PAMP (Pathogen Specific Associated Molecules Pattern), complement factor, histamin, prostaglandin, dan leukotriene. Agen ini akan ditangkap oleh reseptor TLRs (toll like receptor) dan merangsang aktivasi jalur signalling intraseluler yaitu jalur  $\text{NF}\kappa\beta$  dan MAPK. Pengaktifan jalur ini akan menghasilkan ekspresi gen yang terdiri dari sitokin dan kemokin pro-inflamasi yang menstimulasi leukosit untuk ekstravasasi keluar dari sel endotel ke matriks provisional. Leukosit akan melepaskan bermacam-macam faktor untuk menarik sel yang akan memfagosit debris, bakteri, dan jaringan yang rusak, serta pelepasan sitokin yang akan memulai proliferasi jaringan. Leukosit yang terdapat pada luka di dua hari pertama adalah neutrofil, biasanya terdeteksi pada luka dalam 24 jam sampai dengan 36 jam setelah terjadi luka. Sel ini membuang jaringan mati dan bakteri dengan fagositosis.<sup>34</sup>

Eritrosit merupakan sel yang paling sederhana yang ada di dalam tubuh. Eritrosit tidak memiliki nukleus dan merupakan sel terbanyak dalam darah. Eritrosit mengandung hemoglobin, yaitu protein yang mengandung besi, berperan dalam transpor oksigen dan karbondioksida di dalam tubuh. Oleh karena itu eritrosit sangat diperlukan dalam proses oksigenasi organ tubuh. Dengan mengetahui keadaan eritrosit, secara tidak langsung dapat diketahui juga keadaan organ tubuh seseorang.<sup>35</sup>

Nilai eritrosit dapat digunakan untuk mengevaluasi kondisi anemia pada hewan. Hemoglobin dan eritrosit merupakan komponen hematologi. komponen tersebut dapat digunakan sebagai sarana untuk memantau toksisitas suatu bahan terutama yang mempengaruhi darah serta status kesehatan hewan.<sup>34</sup>

Beberapa pemeriksaan yang dapat menggambarkan parameter penting dari fungsi dan struktur eritrosit di dalam tubuh antara lain hitung eritrosit, hemoglobin dan hematokrit. Hitung eritrosit atau red blood cell (RBC) adalah menghitung jumlah total eritrosit dalam darah. Hemoglobin (Hb) adalah protein dalam eritrosit yang bertugas mengangkut oksigen. Hematokrit (Ht) adalah jumlah eritrosit dalam 100 ml darah. Ketiga parameter di atas biasa digunakan untuk menegakkan adanya anemia. Anemia secara fungsional didefinisikan sebagai penurunan massa eritrosit dengan akibat oksigenasi jaringan tidak dapat terpenuhi. Secara praktis ada 3 parameter untuk menegakkan adanya anemia yaitu: kadar hemoglobin, hematokrit dan jumlah eritrosit.<sup>35</sup>