

# Pengaruh Kitosan Udang Secara Topikal Terhadap Kepadatan Kolagen dalam Penyembuhan Luka Eksisi pada Tikus Putih

## *Effect of Shrimp Chitosan Topically on Collagen Density as Excision Wound Healing Parameter in Albino Rats*

Dinda Dwi Prastika<sup>1\*</sup>, Boedi Setiawan<sup>2</sup>, Amung Logam Saputro<sup>2</sup>, Ira Sari Yudaniyanti<sup>2</sup>, Prima Ayu Wibawati<sup>3</sup>, Faisal Fikri<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bachelor of Veterinary Medicine, <sup>2</sup>Department of Veterinary Clinic, <sup>3</sup>Department of Veterinary Public Health, <sup>4</sup>Department of Basic Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga, UNAIR C-Campus Mulyorejo, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60115

\*Corresponding author: [dinda.dwi.prastika-2015@fkh.unair.ac.id](mailto:dinda.dwi.prastika-2015@fkh.unair.ac.id)

### Abstrak

Luka eksisi adalah luka yang permukaan kulit dan lapisan bawahnya akan terpotong sampai kedalaman yang bervariasi dapat terjadi secara sengaja atau tidak sengaja. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kitosan kulit udang terhadap kepadatan kolagen dalam proses penyembuhan luka eksisi pada tikus putih. Sebanyak dua puluh ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dibagi ke dalam lima kelompok perlakuan yaitu K- luka eksisi dengan pemberian basis salep, K+ (luka eksisi+10% povidone iodine), P1 (luka eksisi+salep kitosan kulit udang 1.5%), P2 (luka eksisi+udang salep kulit kitosan 2.5%), dan P3 (luka eksisi+kitosan kulit udang 5%). Hasil perhitungan persentase kepadatan kolagen dianalisis oleh Kruskal-Wallis yang menunjukkan perbedaan signifikan ( $p < 0.05$ ) dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney U. Kelompok K+, K- dan P1 memiliki perbedaan signifikan dalam kepadatan kolagen pada P2, dan kelompok P3 ( $p < 0.05$ ). Kesimpulan dari penelitian ini kitosan berpengaruh terhadap kepadatan kolagen dengan dosis 5%.

Kata kunci: kolagen, kitosan, luka eksisi, kepadatan kolagen

### Abstract

Excision wounds are wounds that the surface of the skin and the bottom layer will be severed until varying depths can occur intentionally or unintentionally. The aim of this study was to determine the effect of shrimp chitosan on collagen density in the process of healing excision wounds in white rats. A total of 20 male rats (*Rattus norvegicus*) were divided into five groups with four mice per group. C- (negative control) was given the excision wound and then were given ointment, C+ (excision wound+10% povidone iodine), T1 (excision wound+shrimp skin chitosan ointment 1.5%), T2 (excision wound+shrimp skin chitosan ointment 2.5%), and T3 (excision wound+shrimp skin chitosan 5%). The results of the calculation percentage collagen density were analyzed by Kruskal-Wallis which showed a significant difference ( $p < 0.05$ ) and continued with the Mann-Whitney U test. Group C+, C- and T1 had significant differences in collagen density in T2, and T3 groups ( $p < 0.05$ ). From the results of the study it can be concluded that chitosan has an effect on the collagen density with dosage is 5%.

Key words: collagen, chitosan, excision wounds, collagen density

Received: 19 Juni 2019

Revised: 26 Juli 2019

Accepted: 27 Juli 2019

### PENDAHULUAN

Penanganan luka secara optimal telah mendorong berkembangnya ilmu mengenai luka, penyembuhan dan perawatan luka, karena jika luka tidak dirawat dengan baik akan menyebabkan komplikasi penyembuhan luka

seperti terjadinya infeksi dan pendarahan (Latuheru, 2013). Penyembuhan dan pengobatan luka yang tepat diperlukan untuk pemulihan fungsi anatomi dan fungsional kulit yang terganggu akibat luka yang timbul (Nagori dan Solanki, 2011; Hamid dkk., 2018).



Luka sering terjadi pada daerah kulit yang menyebabkan kerusakan jaringan epitel dan struktur anatomi kulit normal (Nabeela, 2017). Jenis luka salah satunya yaitu luka eksisi, luka eksisi adalah luka yang diakibatkan terpotongnya jaringan oleh goresan benda tajam. Tujuan utama dalam penatalaksanaan luka adalah untuk mencapai penyembuhan yang cepat dengan fungsi yang optimal dan hasil yang bagus (Priyandari dan Siti, 2015).

Pengobatan luka saat ini yang sering digunakan yaitu *Povidone iodine* 10%. Menurut Haris (2009), penggunaan *Povidone iodine* 10% sebagai antiseptik memiliki kelemahan iritatif dan toksik jika masuk dalam pembuluh darah serta dalam penggunaan yang berlebihan dapat menghambat proses granulasi luka.

Penelitian mengenai bahan alami saat ini banyak dilakukan untuk membantu proses penyembuhan luka, salah satunya adalah pemanfaatan cangkang udang. Kulit udang memiliki kandungan kitin yang apabila dilakukan proses deasetilasi akan menjadi kitosan (Dompeimpen dkk., 2016). Kitosan bersifat biokompatibel, biodegradasi, nontoksik, dan antimikroba yang dimilikinya menjadikan kitosan memiliki biokompatibilitas yang baik dalam proses penyembuhan luka (Putri dan Tasminatun, 2012).

Kitosan dalam bidang kesehatan digunakan sebagai agen antiobesitas, antikanker, antibakteria, antifungi, antiperdarahan dan penyembuh luka. Kitosan telah diteliti mampu memacu proliferasi sel, meningkatkan kolagenisasi, dan mengakselerasi regenerasi sel (reepitelisasi) pada kulit yang terluka (Shelma *et al.*, 2008). Penelitian mengenai kitosan udang sebagai alternatif penyembuhan luka eksisi perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian kitosan udang secara topikal terhadap kepadatan kolagen dalam penyembuhan luka eksisi pada tikus putih.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*)

galur wistar dengan umur 10–12 minggu dengan berat 140-150 gram, kulit udang yang berasal dari PT. Istana Cipta Sembada Banyuwangi, *Povidone iodine* 10% (Betadine®), NaCl fisiologis, Xylazine, Ketamin, Sabun Cair, Alkohol 70%, pakan hewan coba untuk *maintenance* dengan kebutuhan protein 4% serta lemak 5% dan kalori 3800 kcal/g (Kusumawati, 2016), air minum, kapas, larutan NaOH 6%, larutan NaOH 50%, larutan HCl 1,1N, aquades, Adeps Lanae 85%, Vaseline Album 15%.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan digital, oven, beaker glass 500 ml, gelas ukur 500 ml, IKA Magnetic Stirrers stirrer C-MAG HS 7, mortar, stamper, sudip, spatel penyusut, pot salep, penimbang berat badan tikus, kandang baterai tikus, alas kandang menggunakan serbuk kayu, tempat makan dan minum, sarung tangan kain, glove karet, steril surgical blades no. 11, scalpel no.3, spuit 1ml dan jarum suntik 26G, pinset anatomis, penggaris, kasa hidrofili steril, perban gulung, alat pencukur bulu, under pads, gunting, mikroskop trinokuler, dan kamera.

### Perlakuan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari lima kelompok perlakuan yaitu K- luka eksisi dengan pemberian salep tanpa kitosan kulit udang, K+ luka eksisi dengan pemberian *povidone iodine* 10% (Betadine®), P1 luka eksisi dengan pemberian salep kitosan kulit udang 1.5%, P2 luka eksisi dengan pemberian salep kitosan kulit udang 2.5%, P3 luka eksisi dengan pemberian salep kitosan kulit udang 5%. Luka eksisi dibuat dengan panjang dan lebar 1x1 cm serta kedalaman hingga bagian subcutan.

Setiap kelompok perlakuan terdiri dari empat ekor tikus. Terapi dengan salep kitosan limbah kulit udang di oleskan sebanyak 0.20 gram sekali sehari pada pagi hari dengan menggunakan *cotton bud* ke seluruh bagian luka kemudian luka ditutup kasa steril serta dibalut dengan perban, sebelum pemberian terapi luka dibersihkan terlebih dahulu menggunakan NaCl fisiologis. Sampel spesimen jaringan diisolasi dari kulit setiap kelompok tikus dikumpulkan

pada hari ke 15 untuk mengevaluasi perubahan histopatologi kepadatan kolagen.

Kepadatan kolagen tampak melalui serat berwarna eosinofilik (magenta) dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* dan diamati menggunakan mikroskop trinokuler dengan perbesaran 400 kali pada lima lapangan pandang dan aplikasi *NIS-Elements BR 4.10.00*. Lokasi pengamatan kolagen merupakan daerah pembuatan luka eksisi. Kepadatan kolagen dihitung menggunakan rumus nilai luas kolagen dibagi dengan nilai luas area, hasilnya dikalikan 100% sehingga didapatkan prosentase kepadatan serabut kolagen (Suharto dan Arif, 2019).

### Analisis Data

Analisis data yang digunakan terhadap perhitungan jumlah kepadatan serabut kolagen pada sediaan preparat histopatologi ini yaitu uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* dengan derajat kemaknaan  $p < 0.05$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan secara mikroskopis terlihat gambaran kepadatan kolagen yang telah diamati (Gambar 1). Gambaran histopatologi dari setiap pengulangan dalam setiap kelompok kemudian dikuantifikasi menggunakan aplikasi *NIS-Elements BR 4.10.00*. Hasil dari gambaran histopatologi berupa prosentase kepadatan kolagen (Tabel 1).

Tabel 1 menunjukkan rata-rata kepadatan kolagen pada setiap perlakuan. Berdasarkan hasil analisis, kelompok yang diberi salep kitosan 2.5% dan salep kitosan 5% memiliki rerata kepadatan kolagen yang berbeda secara nyata jika dibandingkan dengan kelompok salep kitosan 1.5%, kontrol positif dan kontrol negatif.

Persentase rata-rata kepadatan kolagen pada kelompok (K-) basis salep pada penelitian ini menunjukkan hasil yang paling rendah dibandingkan dengan kelompok (K+), P1 (salep kitosan kulit udang 1.5%), P2 (salep kitosan kulit udang 2.5%) dan P3 (salep kitosan kulit udang 5%). Pemberian vaseline karena sifatnya yang hidrokarbon sehingga tidak mudah hilang ketika

terkena air, Vaseline flavum juga bersifat sebagai emolient dan moisturizer yang mempertahankan kelembaban kulit. (Handayani dkk., 2017). Persentase kepadatan kolagen pada K- lebih rendah dibandingkan dengan K+. Hal ini karena pada K- tidak terdapat zat aktif yang dapat mempengaruhi kepadatan kolagen sehingga persentase kepadatan kolagen dibawah K+. Penggunaan vaselin album dan adeps lanae saja tidak mempunyai daya sembuh karena berfungsi hanya sebatas bahan pembawa (Wardono dkk., 2012).

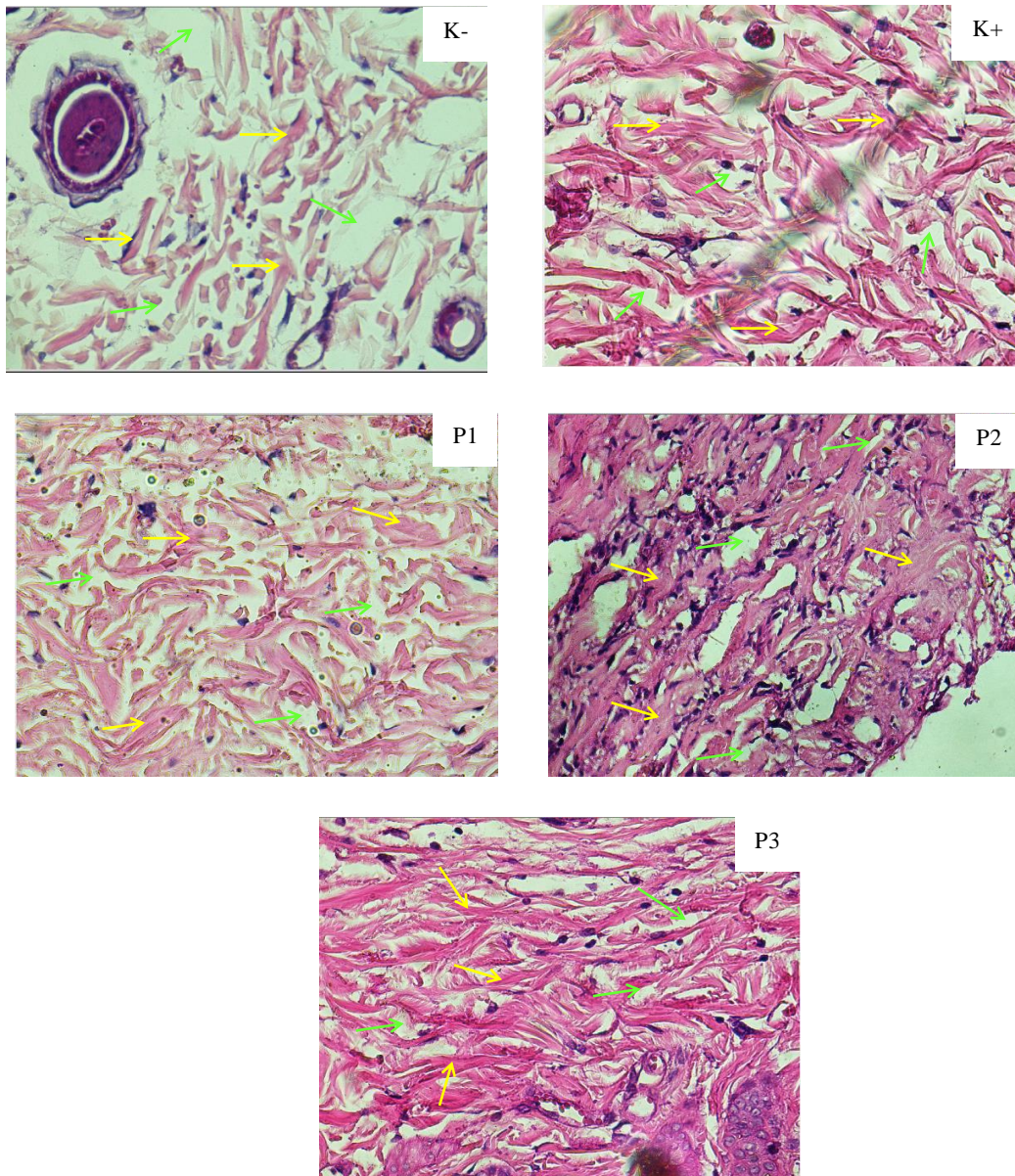
Kelompok perlakuan K+ (*Povidone iodine* 10%) terjadi sedikit peningkatan rata-rata persentase kepadatan kolagen dibandingkan kelompok perlakuan K- (basis salep) walaupun tidak secara signifikan. *Povidone iodine* merupakan salah satu jenis antiseptik yang juga bekerja pada spectrum yang luas, aktif pada bakteri, virus, dan jamur. Iodofor yang merupakan bentuk umum dari iodine topikal bekerja sebagai pembawa iodine bebas yang merupakan zat aktif. Iodofor, sebuah kompleks polimer *1-vinyl-2-pyrrolidinone* yang dapat merusak nukleotida dan protein yang menyebabkan kematian sel bakteri (Rairisti, 2014). Hal ini dapat membantu dalam proses kesembuhan luka pada fase inflamasi, karena apabila tahap ini terlewati lebih awal maka tahap selanjutnya akan lebih cepat dimulai dibandingkan dengan kondisi normal (Subekti, 1998).

Rata-rata persentase kepadatan kolagen P1 (salep kitosan kulit udang 1.5%) lebih rendah daripada (K+), P2 (salep kitosan kulit udang 2.5%) dan P3 (salep kitosan kulit udang 5%). Hasil rata-rata persentase kepadatan kolagen lebih rendah sesuai dengan teori Triyono (2005) bahwa kemampuan kitosan 2.5% dan 5% yang lebih baik daripada salep kitosan 1,5% dikarenakan peningkatan pH akan meningkatkan molekul basa, molekul basa bebas melintasi membran akson dengan mudah dan secara farmakologis bereaksi lebih cepat. Prinsipnya semakin tinggi kadar zat yang bersifat basa (kitosan) maka semakin tinggi sifat basa pada campuran salep tersebut (Wardono dkk., 2012).

**Tabel 1.** Rata-rata dan simpangan baku kepadatan kolagen pada setiap kelompok perlakuan

| Perlakuan                        | Rata-rata (%) ± Simpangan baku |
|----------------------------------|--------------------------------|
| K- (vaselin album+adepts lanae)  | 78.18 <sup>a</sup> ±7.85       |
| K+ ( <i>Povidone iodine</i> 10%) | 79.65 <sup>ab</sup> ±1.95      |
| P1 (salep kitosan 1.5%)          | 79.31 <sup>ab</sup> ±1.71      |
| P2 (salep kitosan 2.5%)          | 85.25 <sup>bc</sup> ±2.51      |
| P3 (salep kitosan 5%)            | 86.71 <sup>c</sup> ±2.69       |

Superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan signifikan ( $p < 0.05$ )



**Gambar 1.** Gambaran histopatologi semua perlakuan perbesaran 400x Mikroskop Trinokuler.

(→) Ruang kosong jaringan ikat longgar; (→) Sabut kolagen

Pemberian kitosan pada luka eksisi akan mempengaruhi proses penyembuhan luka yang diawali dengan fase inflamasi. Penyembuhan luka dimulai segera setelah terjadinya kerusakan

jaringan dan pembuluh darah yang menyebabkan keluarnya platelet. Platelet akan membentuk bekuan darah (*blood clot*) sehingga perdarahan akan terhenti. Pemberian kitosan akan

menginduksi adhesi dan aktivasi platelet sehingga *blood clot* terbentuk dalam waktu singkat. Proses pembentukan *blood clot* (pembekuan darah) yang singkat akan mempercepat proses penyembuhan luka (Hartono dkk., 2015).

Fase inflamasi terjadi pelepasan beberapa faktor oleh platelet, termasuk PDGF dan TGF- $\beta$  serta terjadi migrasi sel-sel inflamasi seperti PMN (*polymorphonuclear*) dan makrofag ke daerah luka dan berperan dalam fagosit benda asing serta bakteri yang ada pada luka (Dai *et al.*, 2011; Hamid dkk., 2019). Kitosan akan terbiodegradasi oleh enzim lisozim yang dilepaskan oleh sel inflamasi yang selanjutnya membentuk *cross-linked* dengan *glycosaminoglycan* dan *glycoprotein* yang merupakan makromolekul matrik ekstraseluler dan menstimulasi TNF- $\alpha$  (*Tumor Necrosis Factor-alfa*), TGF- $\beta$  1 (*Transforming Growth Factor-beta*) dan FGF 2 (*Fibroblast Growth Factor*) (Chin dan Halim, 2009).

Monomer N-asetil glukosamin kitosan berikatan dengan reseptor utama pada makrofag yaitu *mannose reseptor*, setelah itu kitosan diinternalisasi oleh sel makrofag dan memicu migrasi dan proliferasi sel makrofag (Purnama dkk., 2019). Sel makrofag yang teraktivasi menghasilkan peningkatan aktivitas metabolik, sekresi *growth factor* seperti VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), FGF (*Fibroblast Growth Factor*), TGF (*Transforming Growth Factor*) (Puspita dkk., 2015).

Kitosan kemudian akan merangsang migrasi sel-sel radang ke daerah luka dan meningkatkan proliferasi sel-sel radang pada daerah luka tersebut. Semakin meningkat proliferasi dari sel-sel radang menyebabkan semakin banyak pula sitokin dan *growth factor* yang dilepaskan oleh sel-sel radang tersebut.

Fase proliferasi berlangsung antara hari ketiga dan hari keempat belas, apabila tidak terdapat kontaminasi atau infeksi yang bermakna, proses inflamasi akan berlangsung pendek. Fase proliferasi disebut juga fibroplasia karena terjadi proliferasi sel fibroblas (Purnama dkk., 2018). Pemberian kitosan akan memicu sel makrofag untuk meningkatkan produksi *growth*

*factor* seperti PDGF, FGF dan TGF- $\beta$  yang menginduksi fibroblas untuk berproliferasi, migrasi, dan membentuk matriks ekstraseluler (Ueno *et al.*, 2001). TGF  $\beta$ 1 berperan penting dalam pertumbuhan sel fibroblas dan sintesis matrik ekstraseluler. TGF  $\beta$ 1 memicu aktifitas sel fibroblas sehingga meningkatkan proliferasi sel fibroblas. Sel fibroblas semakin banyak maka akan terjadi peningkatan jumlah kolagen tipe 1 yang berperan pada proses remodeling. Maksimal proses sintesa kolagen berlangsung antara hari keempat belas dan hari keduapuluh satu (Sularsih dan Rahmitasari, 2017). Proses sintesis dan degradasi kolagen akan terjadi keseimbangan. Degradasi kolagen pada luka dikendalikan oleh enzim kolagenase. Kecepatan tinggi sintesis kolagen mengembalikan luka ke jaringan normal dalam waktu 6 bulan sampai 1 tahun (Triyono, 2005).

## KESIMPULAN

Kitosan limbah kulit udang secara topikal dengan dosis 5% dapat meningkatkan kepadatan kolagen mencapai 86.71% dalam penyembuhan luka eksisi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Universitas Airlangga PSDKU Banyuwangi atas izin dan fasilitas yang telah diberikan untuk melaksanakan penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Dai, T., Tanaka, M., Huang, Y.Y., Hamblin, M. R. 2011. Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects. Expert review of anti-infective therapy, 9(7), 857-879.
- Dompeipen, E.J., Kaimudin, M., Dewa, R.P. 2016. Isolasi kitin dan kitosan dari limbah kulit udang. Majalah Biam, 12(1), 32-39.
- Hamid, I.S., Aksono, E.B., Sukmanadi, M., Purnama, M.T.E. 2018. Antiangiogenesis

- activity test of tin leaf (*Ficus carica L.*) on the number of blood vessels and VEGF expression of chorioallantoic membrane of embryonated chicken eggs. *Eur. J. Oncol. Pharm.*, 1(4), e00007.
- Hamid, I.S., Ekowati, J., Purnama, M.T.E. 2019. *Kaempferia galanga L.* Inhibiting Effect on Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Cyclooxygenase-2 (Cox-2) Expression on Endothelium of Chorioallantoic Membrane. *Indian Vet. J.*, 96(09), 80-82.
- Handayani, F., Reksi S., Henriko N.K. 2017. Aktivitas Etanol Biji Pinang (*Areca catecu L.*) terhadap Penyembuhan Luka Bakar pada Kulit Punggung Mencit Jantan (*Mus musculus*). *J. Ilmiah Manuntung*, 2(2), 158.
- Haris, R.A. 2009. Efektivitas Penggunaan Iodin 10%, Iodin 70%, Iodin 80%, dan Nacl dalam Percepatan Proses Penyembuhan Luka pada Punggung Tikus Jantan Sprague Dawley [Doctoral Dissertation]. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Hartono, A.F., Prabowo, P.B., Revianti, S. 2018. Aplikasi gel kitosan berat molekul tinggi dan rendah terhadap ketebalan epitel mukosa pada proses penyembuhan luka pencabutan gigi. *DENTA*, 9(1), 1-10.
- Keong, L.C., Halim, A.S. 2009. In vitro models in biocompatibility assessment for biomedical-grade chitosan derivatives in wound management. *Int. J Mol. Sci.*, 10(3), 1300-1313.
- Latuheru, J.O. 2013. Efek Daun Sirih (*Piper Betle L.*) Terhadap Penyembuhanluka Insisi Kulit Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*). *J. e-Biomedik*, 1(2).
- Nabella, S.A. 2017. Efektivitas Gel Ekstrak Daun Binahong (*Anrendera cordifolia* (Ten.) Steenis) pada Luka Insisi Mencit (*Mus musculus*) Melalui Pengamatan Panjang Area Luka dan Penyembuhan Luka. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. 3.
- Nagori, B.P., Solanki, R. 2011. Role of medicinal plants in wound healing. *Res. J. Med. Plant*, 5(4), 392-405.
- Priyandari, Y., Siti, A.T.M.U. 2015. Getah Pohon Jarak (*Jatropha Curcas*) Topical Mempercepat Lama Penyembuhan Luka Eksisi Mencit. *J. Ners Commun.*, 6(2), 198-206.
- Purnama, M.T.E., Prastiya, R.A., Fikri, F., Saputro, A.L., Agustono, B. 2018. Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Menurunkan Indikasi Neoplasia Mammae Tikus Putih Berdasarkan Histopatologi dan Inhibitor Siklooksigenase-2. *J. Vet.*, 19(1), 23-29.
- Purnama, M.T.E., Rahmaningtyas, I.H., Pratama, A.R., Prastika, Z., Kartikasari, A.M., Cahyo, N.P.D. 2019. Tadpole serum activity (*Rana catesbeiana*) in caspase-3 as a marker of the role of apoptosis and total cytotoxic T lymphocytes in albino rats' epithelial cells induced by neoplasia. *Vet. World*, 12(1), 63.
- Puspita, B.S., Sularsih, S., Damaiyanti, D.W. 2015. Perbedaan Pengaruh Pemberian Kitosan Berat Molekul Tinggi dan Rendah terhadap Jumlah Pembuluh Darah pada Proses Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi. *DENTA*, 9(2), 209.
- Putri, F.R., Sri, T. 2012. Efektifitas salep kitosan terhadap penyembuhan luka bakar kimia pada *Rattus norvegicus*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan : Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. 24-30.
- Rairisti, A. 2014. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca Catechu L.*) Terhadap Penyembuhan Luka Sayat pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Jantan Galur Wistar.

- Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura, 1(1).
- Shelma R., Paul, W., Sharma C.P. 2008. Chitin Nanofibre Reinforced Thin Chitosan Films for Wound Healing Application. Trends Biomat. Art. Org., 22(2), 111-115.
- Subekti, D.T. 1998. Perbandingan antara Alantonin (5 Ureidohydantoin) dengan Betadine ® (Povidone iodine) untuk Pengobatan Luka Insisi. Seritagiol., 4(4)
- Suharto, I.P.S., Etika, A.N. 2019. Ekstrak Jahe (*Zingiber Officinale Roscoe*) Berpengaruh Terhadap Kepadatan Serabut Kolagen Luka Insisi. Care: J. Ilm. Ilm. Kes., 7(1), 27-36.
- Sularsih, S., Rahmitasari, F. 2017. Perbedaan Penggunaan Kitosan Dengan Berat Molekul Tinggi Dan Rendah Terhadap Ekspresi Sel Makrofag Pada Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi Tikus *Rattus Norvegicus*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya.
- Triyono, B. 2005. Perbedaan Tampilan Kolagen di Sekitar Luka Insisi pada Tikus yang diberi Infiltrasi Penghilang Nyeri Levobupivakain dan yang tidak diberi Levobupivakain. [Tesis]. Program Magister Biomedik dan PPDS I. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Ueno, H., Nakamura, F., Murakami, M., Okumura, M., Kadosawa, T., Fujinaga, T. 2001. Evaluation effects of chitosan for the extracellular matrix production by fibroblasts and the growth factors production by macrophages. Biomat., 22(15), 2125-2130.
- Wardono, A. 2009. Pengaruh Kitosan Secara Topikal Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Kimiawi pada Kulit Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Terinduksi Asam Sulfat. KTI. Program Sarjana Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah. Yogyakarta.

\*\*\*