

SURAT KETERANGAN

Nomor: 1228/UNUSA/Adm-LPPM/IX/2021

Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya menerangkan telah selesai melakukan pemeriksaan duplikasi dengan membandingkan artikel-artikel lain menggunakan perangkat lunak **Turnitin** pada tanggal 27 Mei 2021.

Judul : Pengaruh Penggunaan Jenis Pelarut dalam Uji Sitotoksistas Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) pada Wound Dressing Kolagen - Kitosan

Penulis : Ary Andini, Endah Prayekti, Fadillah Triasmoro, Indah Nur Kamaliyah

No. Pemeriksaan : 2021.27.09.447

Dengan Hasil sebagai Berikut:

Tingkat Kesamaan diseluruh artikel (*Similarity Index*) yaitu 19%

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 27 September 2021

Ketua LPPM



UNUSA
LPPM

Achmad Syafiuddin, Ph.D

NPP: 20071300

Jurnal Al-Kimiya

by Ary Andini

Submission date: 27-May-2021 06:31AM (UTC+0700)

Submission ID: 1594883908

File name: REV_1_10277-29707-1-RV.docx (65.24K)

Word count: 3365

Character count: 20543

PENGARUH PENGGUNAAN JENIS PELARUT DALAM UJI SITOTOKSISTAS METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT) PADA *WOUND DRESSING* KOLAGEN-KITOSAN

ARY ANDINI,^{1*} ENDAH PRAYEKTI,¹ FADILLAH TRIASMORO,¹ NUR INDAH
KAMALIYAH¹

¹Fakultas Kesehatan, Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya

Jl. Jemursari No. 51-57, Suarabaya, Jawa Timur, Indonesia

* alamat email korespondensi: aryandini@unusa.ac.id

Informasi Artikel

Abstrak/Abstract

Riwayat Naskah :
Diterima pada dd-
Bulan-yyyy
Diterima setelah
direvisi pada dd-
Bulan-yyyy
Diterbitkan pada dd-
Bulan-yyyy
(Diisi oleh Penerbit)

Kata Kunci:

Sitotoksistas;
BSLT;
Kolagen;
Kitosan;
Pembalut Luka.

Keywords:

Cytotoxicity;
BSLT;
Collagen;
Chitosan;
Wound Dressing.

Kolagen dan kitosan dapat digunakan sebagai bahan pembalut luka karena memiliki karakteristik yang baik. Namun, pembalut luka kolagen-kitosan perlu dilakukan uji sitotoksistas sebelum diaplikasikan secara *in vivo*, seperti *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Pembalut luka kolagen-kitosan tidak dapat larut dalam Dimetil Sulfoksida (DMSO) dan aquadest dengan mudah, oleh karena itu perlu pertimbangan alternatif pelarut karena kolagen dan kitosan lebih mudah larut dalam pelarut asam seperti asam klorida (HCl) dan asam asetat (CH₃COOH). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui *Lethal Concentration 50* (LC₅₀) dari pembalut luka kolagen-kitosan yang dilarutkan dalam pelarut DMSO, HCl, CH₃COOH dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Penelitian ini menggunakan uji sitotoksistas dengan metode BSLT dan LC₅₀ dihitung menggunakan Analisis Probit. Pembalut luka dilarutkan dalam pelarut DMSO 1%, CH₃COOH 1% dan HCl 1% hingga homogen, kemudian diencerkan dengan berbagai konsentrasi yaitu 100 ppm, 250 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm dengan tiga kali ulangan untuk setiap perlakuan. Setelah itu uji BSLT dilakukan dengan menggunakan *Artemia salina*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pembalut luka yang dilarutkan dalam DMSO 1% memiliki LC₅₀ > 1000 ppm, sedangkan pada pelarut CH₃COOH dan pelarut HCl menunjukkan LC₅₀ < 30. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pelarut DMSO bersifat non-toksik (LC₅₀ > 1000 ppm), tetapi pelarut CH₃COOH 1% dan HCl 1% bersifat sangat toksik (LC₅₀ < 30 ppm) sebagai pelarut alternatif pembalut luka kolagen-kitosan pada uji BSLT.

Collagen and chitosan could be used for a wound dressing due to their excellent properties. But, wound dressing collagen-chitosan needs to cytotoxicity test before applying to in vivo, such as Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Collagen-chitosan wound dressing could not dissolved in Dimethyl Sulfoxide (DMSO) and aquadest easily, therefore an alternative solvent need to be considered due to collagen and chitosan is prefer to be dissolved in acid solution such as chloride acid (HCl) and acetic acid (CH₃COOH). The aim of the study is to determine Lethal Concentration 50 (LC₅₀) of collagen-chitosan wound dressing which dissolved in DMSO, HCl, CH₃COOH in Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). The research used cytotoxicity test by BSLT methods and LC₅₀ was calculated using Probit Analysis. Wound dressing is dissolved in a solvent DMSO 1%, CH₃COOH 1%, HCl 1% until homogeny, then diluted in various concentration such as 100 ppm, 250 ppm, 250 ppm, 500 ppm, and 1000 ppm with three times replication for each assesment. Afterwards, BSLT was carried out with Artemia salina. The results study showed that wound dressing which was dissolved in DMSO 1% had LC₅₀ > 1000 ppm, however CH₃COOH 1% solvent and HCl 1% solvent were LC₅₀ < 30 ppm. As conclusion of the research explained DMSO was non-toxic (LC₅₀ > 1000 ppm), but CH₃COOH 1% and HCl 1% were very toxic (LC₅₀ < 1000 ppm) as alternative solvent for wound dressing collagen-chitosan in BSLT.

PENDAHULUAN

Kolagen merupakan tahapan terpenting dalam penyembuhan se[9]ah luka[1]. Kemampuan yang dimiliki kolagen antara lain homeostasis, interaksi dengan trombosit, interaksi dengan fibronektin,

meningkatkan eksudasi cairan, meningkatkan komponen seluler, meningkatkan faktor pertumbuhan dan mendorong proses fibroplasia dan terkadang pada proliferasi epidermis [2][3]. Manfaat adanya kolagen untuk mempercepat pemulihan pada jaringan yang rusak.

Kolagen terdapat dari sisik ikan gabus sebagai kolagen derivat, dan diekstrak [4][5]. Hal tersebut mengakibatkan suhu denaturasi kolagen sisik ikan relatif rendah dan membuatnya menjadi protein yang mudah dicerna. Kolagen memiliki keunggulan dibandingkan hewan ternak karena halal untuk dikonsumsi, memiliki imunoreaktivitas yang rendah, bebas dari *bovine spongiform encephalopathy* (BSE), *foot and mouth disease* (FMD), *avian and swine influenza* [1][6]. Selain itu, kolagen kandungan kolagen dari limbah perikanan baik dari kulit, sisik dan tulang ikan cukup tinggi sehingga kegunaan yang lebih beragam dapat digunakan dalam industri makanan, kosmetik dan medis[7][8].

Ikan Gabus memiliki kandungan tinggi protein dengan tiga asam amino utama yaitu glisin yang berperan penting dalam sintesis kolagen, glutamin yang berperan penting dalam fase inflamasi dan proliferasi penyembuhan luka sekaligus sebagai sumber energi, serta arginin yang berperan dalam system imun dan menstimulasi sel-sel endothelial[5][9]. Berdasarkan keunggulan tersebut, maka kolagen dari sisik dan kulit ikan Gabus dapat dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan *wound dressing*. Perpaduan antara kolagen dan kitosan sebagai *wound dressing* dapat menghasilkan biomaterial unggul dalam penyembuhan luka, karena kitosan memiliki sifat bioaktif, non-toksik, biokompatibel, biodegrabel, anti-mikroba dan anti-jamur[3][5][10][11].

Kitosan mampu berinteraksi dengan senyawa dipermukaan sel bakteri dan menyerap hingga membentuk sebuah lapisan yang dapat menghambat saluran transportasi sel, sehingga sel akan kekurangan substansi untuk berkembang dan mati, namun kitosan memiliki kekurangan yaitu tidak dapat menyerap air dengan baik sehingga dapat menyebabkan sifat antibakterinya tidak dapat bertahan lama dan mengakibatkan mikroba dapat berkembangbiak [12]. Oleh karena itu, harus dilakukan uji sitotoksitas, salah satunya adalah dengan menggunakan uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).¹⁶

Uji sitotoksitas dengan metode BSLT dapat dilakukan dengan cepat, murah, dan mudah, sehingga banyak digunakan sebagai tahap awal (skrining) dalam penapisan ekstrak[13]. Hasil uji BSLT berupa nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) yang menunjukkan konsentrasi paparan zat toksik terhadap 50% biota uji mati [14]. Pengetahuan bioaktivitas senyawa salah satunya melakukan uji toksisitas tahap awal *brine shrimp* (udang laut) yang berjenis *Artemia salina*. Larva udang merupakan organisme sederhana dan paling kecil dari biota laut dan memiliki kepekaan yang cukup

tinggi terhadap senyawa toksik[15]. Adapun kategori toksisitas menurut Meyer et al (1982) dapat dilihat pada table 1.

Tabel 1. Kategori toksisitas

Kategori	LC_{50} (ppm)
Sangat toksik	< 30
Toksik	30 – 1000
Tidak toksik	> 1000

(Sumber : Meyer, 1982)

Sebelum dilakukan uji BSLT, komposit kolagen-kitosan perlu dilakukan pengenceran pada berbagai konsentrasi mulai dari rendah hingga ke tinggi untuk mengetahui reaksi senyawa aktif komposit terhadap mortalitas mortalitas larva udang *artemia salina Leach*. Uji BSLT pada *wound dressing* kolagen-kitosan telah dilakukan oleh Andini, dkk (2020), namun proses pelarutan komposit kolagen-kolagen tidak larut dalam aquades, sedangkan dalam pelarut standar DMSO 1% membutuhkan waktu lama untuk larut. Hal ini dikarenakan karakteristik dari kolagen-kitosan yang lebih larut dalam larutan asam. Pelarut kolagen dan kitosan yang seringkali digunakan adalah asam asetat (CH_3COOH) dan asam klorida (HCl). Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui pelarut alternatif komposit kolagen-kitosan yang dapat digunakan untuk uji BSLT dengan mengetahui nilai LC_{50} pada pelarut asam asetat dan asam klorida.

EKSPERIMEN

Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Uji sitotoksitas yang digunakan pada komposit kolagen-kitosan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan biota uji adalah *Artemia salina Leach*. Terdapat 3 kelompok yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, kelompok kontrol dengan menggunakan pelarut standar DMSO 1%, dan kelompok perlakuan dengan menggunakan pelarut CH_3COOH 1% dan HCl 1%. Pengenceran komposit kolagen-kitosan pada masing-masing pelarut dilakukan pada konsentrasi 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm.

Material

Bahan yang diperlukan untuk penelitian ini berdasarkan tahap ekstraksi kolagen meliputi kulit dan sisik Ikan gabus, HCl 2%, NaOH 1 M, kitosan serbuk dari cangkang *Black Tiger* dengan *medical grade* yang dibeli dari Monodon. Sedangkan bahan yang digunakan untuk uji sitotoksitas metode BSLT adalah asam asetat 1%, telur *Artemia salina*

Leach, alkohol 70%, garam laut, akuades, dimetil sulfoksida 1%, asam klorida 1%.

Instrumentasi

Alat yang akan digunakan dalam proses ekstraksi adalah beaker glass, gelas corong, kain saring, aluminium foil, spatula, gelas ukur, spatula, pipet volume dan pipet tetes. Sedangkan untuk uji BSLT menggunakan alat yaitu cawan petri, aluminium foil, aerator, baskom, pipet tetes, spatula, gelas ukur, dan pipet volume.

Prosedur

Ekstraksi kolagen Ikan gabus

Ekstraksi kolagen dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan menyiapkan kulit dan sisik Ikan gabus yang telah dibersihkan sebelumnya. Pada tahap selanjutnya, dilakukan perendaman sisik dan kulit Ikan gabus dalam larutan HCl 2% dengan perbandingan 1:8 selama 48 jam didalam lemari es (suhu 4°C), kemudian pisahkan filtrat dengan residu. Penambahan NaOH 1 M diberikan pada filtrat secara perlahan hingga terbentuk serabut putih kolagen (pH netral). Selanjutnya, dilakukan pemisahan serabut kolagen dan kolagen basah yang didapatkan selanjutnya dikemas dalam wadah steril dan disimpan dalam lemari es [4][16].

Pembuatan komposit kolagen-kitosan

Komposit yang digunakan sebagai sampel berasal dari kolagen basah dan kitosan. Proses pembuatan kitosan 2% dilakukan dengan menimbang serbuk kitosan 2 gram dan dilarutkan dalam asam asetat 1%, kemudian dihomogenkan dengan *stirrer* hingga kitosan larut sempurna[4][17][18].

Sampel yang digunakan dalam penelitian merupakan komposit kolagen-kitosan dengan konsentrasi perbandingan 1:1 (w/w) dengan mencampurkan kitosan 10 gram dan kolagen 10 gram hingga homogen, selanjutnya komposit dicetak dalam cetakan steril yang telah disediakan dan mendinginkan hingga komposit kolagen-kitosan mengering[4].

8

Penetasan *Artemia Salina Leach*

Penetasan telur *Artemia salina Leach* dilakukan didalam air dengan kandungan garam (air laut) sehingga dalam penelitian ini digunakan air yang ditambahkan dengan garam laut. Sebanyak 2 gram telur *Artemia salina Leach* dimasukkan dalam air dan ditambahkan aerator

sebagai oksigen serta cahaya hingga telur menetas selama 48 jam.

Preparasi sampel uji BSLT

Komposit kolagen-kitosan dilarutkan dalam tiga pelarut berbeda yaitu DMSO 1%, CH₃COOH 1% dan HCl 1% sehingga masing-masing didapatkan konsentrasi 1000 ppm (larutan induk). Selanjutnya, larutan induk dari masing-masing pelarut dilakukan pengenceran sehingga didapatkan konsentrasi 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm dalam 100 ml (larutan sampel).

Uji BSLT

Uji BSLT dilakukan dengan cara memipet 5 ml air garam yang diletakkan dalam cawan petri. Kemudian ditambahkan 5 ml larutan sampel. Sebanyak 10 ekor *Artemia salina* Leach dimasukkan dalam larutan tersebut dan diinkubasi selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah larva yang masih hidup dan dihitung LC₅₀ menggunakan excel untuk menentukan nilai probit *Artemia salina*. Uji ini dilakukan replikasi sebanyak tiga kali untuk masing-masing kelompok[5][19].

Analisa hasil

Efek sitotoksitas dapat dilakukan dengan perhitungan % mortalitas larva *Artemia salina* kematian dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ mortalitas} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Total jumlah larva awal}} \times 100\% \quad (1)$$

Tingkat kematian atau mortalitas (%) diperoleh dengan membandingkan jumlah larva mati dibagi dengan total larva. Nilai LC₅₀ diperoleh dari penentuan nilai probit, yaitu mengkonversi nilai persen kematian dengan tabel probit. Plotting data antara nilai probit dengan log konsentrasi akan diperoleh persamaan regresi sebagai berikut[15] [19]:

$$y = ax + b \quad (2)$$

Keterangan :

y = nilai probit

a = konsentrasi regresi

x = logaritma₁₀ konsentrasi uji

b = kemiringan regresi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental tentang Pengaruh Pelarut Komposit Kolagen-Kitosan pada Uji Sitotoksitas

dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Penelitian dilakukan untuk mengetahui efek yang terjadi pada larva *Artemia salina* Leach akibat pelarut komposit kolagen-kitosan dalam senyawa asam.

Artemia salina sebagai hewan uji yang digunakan harus berusia 48 jam, karena aktif bergerak pada fase larva dan fase paling aktif untuk membelah secara mitosis sehingga identik sebagai sel kanker [20]. Penelitian yang akan menganalisa akibat perendaman *Artemia salina* Leach dengan suatu pelarut. Pelarut yang digunakan akan menunjukkan pengaruh terhadap komposit kolagen-kitosan menggunakan larva udang *Artemia salina* pada setiap masing-masing perlakuan. Hasil uji BSLT dapat dilihat pada tabel 2, 3 dan 4. Sedangkan untuk klasifikasi hasil penelitian berdasarkan nilai LC_{50} menurut Meyer et al dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 2. Persentase kematian *A. salina* dalam pelarut DMSO

Konsentrasi (ppm)	Log10 (ppm)	% kematian	Probit
100	2.00	3%	-
250	2.40	3%	3.12
500	2.70	0	0
750	2.88	10%	3.72
1000	3.00	30%	4.48

Tabel 3. Persentase kematian *A. salina* dalam Pelarut HCl 1%

Konsentrasi (ppm)	Log10 (ppm)	% kematian	Probit
100	2.00	100%	8.09
250	2.40	100%	8.09
500	2.70	100%	8.09
750	2.88	100%	8.09
1000	3.00	100%	8.09

Tabel 4 Persentase kematian *A. salina* CH_3COOH 1%

Konsentrasi (ppm)	Log10 (ppm)	% kematian	Probit
100	2.00	100%	8.09
250	2.40	100%	6.13
500	2.70	100%	8.09
750	2.88	87%	8.09
1000	3.00	100%	8.09

Tabel 5. Hasil LC_{50} pada Uji BSLT

NO	Grup	LC_{50}	Keterangan
1	DMSO 1%	>1000	Tidak Toksik
2	CH_3COOH 1%	<30	Sangat Toksik
3	HCl 1%	<30	Sangat Toksik

Berdasarkan klasifikasi kondisi toksisitas menurut Meyer dkk. (1982), maka hasil uji menunjukkan bahwa komposit kolagen kitosan yang dilarutkan dalam DMSO 1% menunjukkan tidak toksik dengan hasil LC_{50} >1000 ppm. Hasil

uji BSLT pada komposit kolagen-kitosan yang dilarutkan menunjukkan nilai LC_{50} <30 sehingga bersifat sangat toksik [15].

Pelarut pertama yang digunakan dalam penelitian adalah DMSO 1%. Dimetil sulfoksida (DMSO) merupakan suatu cairan jernih, tidak berbau, bersifat menyerap molekul air dengan baik (higroskopis), larut dalam air, larut dalam alkohol, aseton, kloroform, eter, dan dalam benzena. Berdasarkan hasil penelitian, didalam pelarut dimetyl sulfoksida (DMSO) tidak banyak terjadi kematian larva *Artemia salina* Leach dalam pelarut karena DMSO 1% memiliki sifat *universal* tidak bersifat toksik, berdasarkan dari hasil yang didapatkan pada LC_{50} sebesar 3890,45145 [15]. Secara farmologis pelarut DMSO juga sangat aman digunakan karena memiliki kandungan toksisitas yang rendah pada manusia dan tidak membahayakan lingkungan [21]. Oleh karena itu, selain aquades, DMSO 1% digunakan sebagai pelarut senyawa utama dalam uji BSLT.

Pelarut kedua yang digunakan adalah HCl 1%. Asam Klorida (HCl) merupakan larutan akuatik dari gas hidrogen klorida merupakan asam kuat sebagai komponen utama pada asam lambung. HCl merupakan asam monoprotic yang mampu berdisosiasi melepaskan satu H^+ , termasuk dalam larutan asam kuat karena mampu untuk berdisosiasi secara penuh dalam air[22]. Asam klorida merupakan cairan yang bersifat korosif dan sangat berbahaya bagi manusia, sehingga perlu digunakan sebagai uji pembandingan pada komponen yang menunjukkan ada atau tidaknya kandungan toksisitas pada komposit kolagen-kitosan. Pengujian pelarut HCl sebagai pelarut perlu dipertimbangkan karena sifat HCl yang mampu untuk melarutkan kolagen dan kitosan secara cepat dan menyeluruh. Namun, berdasarkan hasil penelitian menunjukkan jika tingkat % kematian *Artemia salina* pada hampir setiap konsentrasi tinggi yang mempengaruhi nilai LC_{50} . Berdasarkan hasil penelitian, pelarut HCl 1% menunjukkan nilai LC_{50} sebesar 61.66 ppm yang menunjukkan jika pelarut yang digunakan bersifat toksik. Efek toksisitas tersebut membunuh seluruh larva *artemia salina* mulai dari pengulangan pertama hingga pengulangan ketiga. Hal tersebut dapat terjadi karena HCl memiliki kandungan pengasam paling efektif, dan dapat mendenaturasi membran sel [15][23] yang berdampak pada tingginya kematian *Artemia salina*. Oleh karena itu, pelarut HCl 1% belum layak digunakan untuk pelarut kolagen-kitosan pada uji BSLT.

Pelarut ketiga yang digunakan dalam penelitian yaitu CH_3COOH 1%. Asam asetat (CH_3COOH) merupakan bahan kimia yang cair, tidak berwarna dan memiliki aroma yang sangat

tajam. Asam asetat dikenal sebagai asam cuka yang merupakan asam karboksilat yang paling sederhana setelah asam format[22]. Asam asetat termasuk asam lemah yang tercampur dengan air akan berdisosiasi menjadi H^+ dan CH_3COOH^- [22][24]. Konstanta dielektrik asam asetat yaitu 36,2 sehingga mudah bercampur dengan senyawa polar atau nonpolar lainnya seperti air, kloroform dan n-heksana, sehingga pelarut asam asetat seringkali digunakan untuk industry. Meskipun asam asetat bersifat asam lemah dengan pK_a 10^{-5} , namun mampu untuk melarutkan suatu protein[25]. Berdasarkan hasil uji BSLT menunjukkan jika komposit kolagen-kitosan yang dilarutkan dalam asam asetat bersifat sangat toksik dengan nilai $LC_{50} < 30$. Namun, prosentase kematian *Artemia salina* tidak terjadi pada setiap konsentrasi pengenceran sampel. Hal ini dapat disebabkan karena sifat dari asam asetat yang bersifat asam lemah dibandingkan asam klorida yang bersifat asam kuat.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan jika pelarut asam tidak dapat digunakan sebagai dipertimbangan pelarut pengganti DMSO 1% pada uji BSLT karena bersifat sangat toksik bagi kelangsungan hidup *Artemia salina*. Namun, penelitian ini masih bisa dikembangkan dengan menggunakan asam asetat sebagai pelarut senyawa larut asam dengan konsentrasi yang sangat rendah (<1%) sebagai pertimbangan alternatif pelarut untuk uji BSLT.

SIMPULAN

Kesimpulan dalam penelitian ini menjelaskan bahwa DMSO dan CH_3COOH merupakan larutan non toksik untuk melarutkan komposit kolagen-kitosan pembalut luka dalam metode BLST karena $LC_{50} > 1000$, tetapi larutan CH_3COOH dan HCl merupakan larutan yang sangat toksik karena $LC_{50} < 30$.

12

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya yang telah mendukung dalam terselenggaranya penelitian dan Laboratorium Kimia Kesehatan yang memfasilitasi pelaksanaan kegiatan penelitian ini.

REFERENSI

[1] A. Andini, R. Handajani, S. Koesnowidjo, M. Z. Ichsan, and L. Phiginelli, "In vivo Effectivity of Collagen Extract from *Clarias gariepinus* (Burchell ,

1822) ' Sangkuriang ' on Formation of Malondialdehyde and Macrophages in Burn Healing," vol. 57, no. September 2019, pp. 35–40, 2020.

[2] B. Triyono, "Perbedaan Tampilan Kolagen Disekitar Luka Insisi pada Tikus Wistar yang Diberi Infiltrasi Penghilang Nyeri Levobupivakin.," 2005.

10
[3] A. Mohandas, S. Deepthi, R. Biswas, and R. Jayakumar, "Chitosan based metallic nanocomposite scaffolds as antimicrobial wound dressings," *Bioact. Mater.*, vol. 3, no. 3, pp. 267–277, 2017, doi: 10.1016/j.bioactmat.2017.11.003.

[4] A. Andini and E. Prayekti, "Chitosan As Antifungal in *Channa Striata* Collagen chitosan for Wound Healing," *Med. Heal. Sci. J.*, vol. 3, no. 2, 2019, doi: 10.33086/mhsj.v3i2.1197.

[5] A. Andini, E. Nidianti, and E. Prayekti, "Cytotoxicity Assay of Chitosan-Collagen Wound Dressing using Brine Shrimp Lethality Test Methods," *Biomedika*, vol. 13, no. 1, pp. 9–14, 2020, doi: 10.31001/biomedika.v13i1.680.

2
[6] A. Andini, R. Handajani, and Soetjipto, "Sangkuriang Catfish (*Clarias gariepinus* var) Skin Activity on Fibroblast and Collagen Synthesis for Skin Burn Healing," *Proceeding Surabaya Int. Heal. Conf.*, pp. 347–351, 2017, [Online]. Available: <http://journal.unusa.ac.id/index.php/sihc/article/view/339/304>.

2
[7] L. M. Leong, A. Z. Sahalan, L. H. Tan, N. H. Mustafa, and N. F. Rajab, "Clarias batrachus collagen extract increases fibroblast cell adhesion, migration and proliferation," *J. Appl. Pharm. Sci.*, vol. 5, no. 3, pp. 19–23, 2015, doi: 10.7324/JAPS.2015.50304.

5
[8] W. K. Song, D. Liu, L. L. Sun, B. F. Li, and H. Hou, "Physicochemical and Biocompatibility Properties of Type I Collagen from the Skin of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) for Biomedical Applications," *Mar. Drugs*, vol. 17, no. 3, 2019, doi: 10.3390/md17030137.

7
[9] P. Rahayu, F. Marcelline, E. Sulistyningrum, M. T. Suhartono, and R.

- R. Tjandrawinata, "Potential effect of striatin (DLBS0333), a bioactive protein fraction isolated from *Channa striata* for wound treatment," *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, vol. 6, no. 12, pp. 1001–1007, 2016, doi: 10.1016/j.apjtb.2016.10.008.
- [10] S. Ahmed and S. Ikram, "Chitosan Based Scaffolds and Their Applications in Wound Healing," *Achiev. Life Sci.*, vol. 10, no. 1, pp. 27–37, 2016, doi: 10.1016/j.als.2016.04.001.
- [11] F. R. Putri and S. Tasminatun, "Efektivitas Salep Kitosan terhadap Penyembuhan Luka Bakar Kimia pada *Rattus norvegicus*," *Mutiara Med. J. Kedokt. dan Kesehat.*, vol. 12, no. 1, pp. 24–30, 2012, [Online]. Available: <http://journal.umy.ac.id/index.php/mm>.
- [12] A. Octavian, "Kajian Sifat Fisik-Mekanik dan Antibakteri Plastik Kitosan Termodifikasi Kolagen Limbah Sisik Ikan Kakap Merah," 2015.
- [13] W. T. Fajaringsih N.D., Januar H.I., Nursid M, "Potensi Antitumor Ekstrak Spons *Crella Popilata* Asal Taman Nasional Seribu," *J. Pascapanen dan Bioteknol. Kelaut. dan Perikan.*, vol. 1, pp. 35–42, 2006.
- [14] J. Soemirat, *Toksikologi Lingkungan*. 2005.
- [15] M. J. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols Dj, "Brine Shrimp Lethality Test: A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituents.," *Planta Med.*, 1982.
- [16] D. A. P. Puspitasari, V. P. Bintoro, and B. E. Setiani, "the Soaking Effect on Different Hydrochloride Acid Level and Soaking Time on Ph₂, Swelling Percentage and Collagen Yield of Chicken Shank Bone," *J. Indones. Trop. Anim. Agric.*, vol. 38, no. 2, pp. 98–102, 2013, doi: 10.14710/jitaa.38.2.98-102.
- [17] N. Istiqomah, D. I. R, and S. Sumarsih, "Pembuatan Hidrogel Kitosan – Glutaraldehid Untuk Aplikasi Penutup Luka Secara In Vivo," *J. Fis. dan Ter.*, vol. 1, no. 1, pp. 30–49, 2015.
- [18] A. A. Putra *et al.*, "Pengaruh pemberian gel chitosan terhadap penyembuhan luka insisi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)," *Jimvet*, vol. 2, no. 4, pp. 442–449, 2018.
- [19] A. Andini, E. Prayekti, D. Dyah Wulandari, and E. Nidianti, "Cytotoxicity Assay Using Brine Shrimp Lethality Test on Collagen-Chitosan Wound Dressing Sterilized By Ultraviolet Light," *Indones. J. Med. Lab. Sci. Technol.*, vol. 2, no. 1, pp. 21–26, 2020, doi: 10.33086/ijmlst.v2i1.1467.
- [20] Subekti, NK, "Uji toksisitas akut ekstrak metanol daun laban abang terhadap larva udang dengan metode brine shrimp lethality test (BSLT).," 2014.
- [21] A. S. Afandi, "Penggunaan Dimetil Sulfoksida (DMSO) Sebagai Pelarut Untuk Analisis Uji Batas 'Cemaran Organik Mudah Menguap' Menggunakan Kromatografi Gas," 2007.
- [22] E. N. Setyaningrum, "efektivitas penggunaan jenis asam dalam proses ekstraksi pigmen antosianin kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan penambahan aseton 60%," *J. Teknol. Has. Pertan.*, vol. 1, pp. 1–36, 2010.
- [23] G. Gao, L. dan Mazza, "Ekstraksi Antosianin Pewarna Merah Alami dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.): Kajian HCl dan Aplikasinya Pada Yoghurt," 1996.
- [24] F. Samuel, C.B.S dan Malau, "Pra Rencana Pembuatan Asam Asetat dengan Kapasitas 86.000 Ton/Tahun," 2019.
- [25] N. Yuliasari, Herlina, and W. Aprianto, "Pengaruh Asam Asetat terhadap Konsentrasi Fe, Cu dan Protein Daun Eceng Gondok (*Eichornia crassipes*)," *J. Penelit. Sains*, vol. 14, no. C, pp. 28–32, 2011.

ORIGINALITY REPORT

19%

SIMILARITY INDEX

15%

INTERNET SOURCES

9%

PUBLICATIONS

11%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	Submitted to Padjadjaran University Student Paper	4%
2	repository.unusa.ac.id Internet Source	3%
3	pt.scribd.com Internet Source	2%
4	www.scribd.com Internet Source	1%
5	Submitted to Nanyang Technological University Student Paper	1%
6	Submitted to Giresun Üniversitesi Student Paper	1%
7	Guntur Berlian, Olivia Mayasari Tandasasmita, Raymond Rubianto Tjandrawinata. "Upregulation of endogenous erythropoietin expression by DLBS6747, a bioactive fraction of Ipomoea batatas L. leaves, via increasing HIF1 α transcription	1%

factor in HEK293 kidney cells", Journal of Ethnopharmacology, 2019

Publication

8	ejournal.poltekkesaceh.ac.id Internet Source	1 %
9	fr.scribd.com Internet Source	1 %
10	repositorio.udea.edu.co Internet Source	1 %
11	journal2.unusa.ac.id Internet Source	1 %
12	zombiedoc.com Internet Source	1 %
13	innovareacademics.in Internet Source	1 %
14	id.123dok.com Internet Source	1 %
15	Submitted to Sriwijaya University Student Paper	1 %
16	media.neliti.com Internet Source	1 %

Exclude quotes Off
Exclude bibliography On

Exclude matches < 1%

