

## The effect of application of *Chlorella vulgaris* extract gel on bone remodeling

### Pengaruh aplikasi gel ekstrak *Chlorella vulgaris* terhadap terjadinya remodeling tulang

Sutiyo, Astrini Desintha Iraniza, Edy Machmud

Departemen Prostodonsia

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

Makassar, Indonesia

Corresponding author: Sutiyo, Email: [sutiyo346@gmail.com](mailto:sutiyo346@gmail.com)

#### ABSTRACT

**Background:** *Chlorella vulgaris* is one type of one-celled green algae, can multiply quickly, easy to cultured, and has a high survival ability. Mineral content of *C. vulgaris* plays a major role in bone and teeth mineralization and the regulation of blood calcium and phosphorus levels. One way to increase the effectiveness of the use of *C. vulgaris* in the process of bone remodeling is to make a formulation of *C. vulgaris* extract in the gel form. **Objective:** To determine the formulation and safety of *C. vulgaris* gel preparations as bone remodeling material. **Method:** Experimental laboratory. **Conclusion:** the 5% concentration of gel preparation of *C. vulgaris* is the best formulation compared to other concentrations

**Keywords:** *chlorella vulgaris*, bone remodeling, formulation, irritation

#### ABSTRAK

**Latar belakang:** *Chlorella vulgaris* merupakan salah satu jenis alga hijau bersel satu dapat berkembang biak dengan cepat, mudah dikultur, dan memiliki kemampuan bertahan hidup yang tinggi. Kandungan mineral dari *C. vulgaris* berperan utama dalam mineralisasi tulang, gigi, dan regulasi kalsium darah dan kadar fosfor. Salah satu cara untuk meningkatkan efektivitas penggunaan *C. vulgaris* pada proses remodeling tulang adalah dengan melakukan formulasi ekstrak *C. vulgaris* dalam bentuk gel. **Tujuan:** Untuk mengetahui formulasi dan keamanan sediaan gel *C. vulgaris* sebagai bahan remodeling tulang. **Metode:** Eksperimen laboratorium. **Simpulan:** Sediaan gelekstrak *C. vulgaris* konsentrasi 5% merupakan formulasi terbaik terhadap terjadinya remodeling tulang.

**Kata kunci:** *chlorella vulgaris*, remodeling tulang, formulasi, iritasi

Received: 1 February 2019

Accepted: 1 August 2020

Published: 1 Desember 2020

#### PENDAHULUAN

*Chlorella sp* merupakan salah satu jenis alga hijau bersel satu, yang berdiri sendiri dan berbentuk bulat atau bulat telur dengan diameter 3-8  $\mu$ , memiliki kloroplas berbentuk seperti cawan dan dindingnya keras. Salah satu alga mikro yang paling sering ditemukan di perairan Indonesia adalah alga hijau *Chlorella vulgaris*. Hal ini karena *C. vulgaris* dapat berkembang biak dengan cepat, mudah dikulturasi, dan memiliki kemampuan bertahan hidup yang tinggi.<sup>1-3</sup>

Komposisi utama dari *C. vulgaris* adalah protein, lemak, karbohidrat, pigmen, mineral dan vitamin. Kandungan mineral, seperti kalsium dan zat besi serta vitamin D berperan utama dalam mineralisasi tulang, gigi, dan regulasi kalsium darah dan kadar fosfor.<sup>4</sup>

Remodeling tulang diatur oleh hormon dan faktor lainnya. Hormon tersebut adalah hormon paratiroid, insulin, hormon pertumbuhan, vitamin D, kalsium, kalsitonin, glukokortikoid, hormon seks (estrogen dan androgen) dan hormon tiroid. Zat gizi juga berpengaruh pada struktur tulang dan metabolisme tulang yaitu kalsium, fosfor, zink, magnesium, besi, vitamin K, vitamin B12, vitamin A, dan asam lemak.<sup>4</sup>

Kalsium merupakan mineral yang paling banyak terdapat di dalam tubuh manusia; sekitar 99% kalsium terdapat di dalam jaringan keras yaitu pada tulang dan

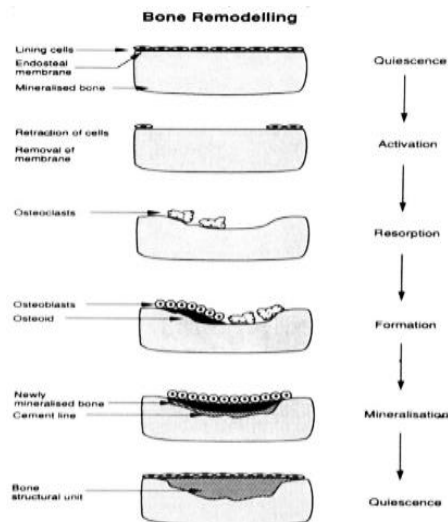
gigi, dan 1% kalsium terdapat pada darah dan jaringan lunak. Metabolisme kalsium meliputi beberapa nutrisi lainnya seperti protein, vitamin D dan fosfor.<sup>5</sup>

Fosfor, yaitu mineral penyusun utama dari tulang dan gigi, memberikan kekuatan kepada jaringan. Seluruh 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. Beberapa hormone, seperti hormon paratiroid, 1,25-dihydroxyvitamin D dan *fibroblast growth factor* 23 (FGF23) mempermudah penyerapan fosfor dalam usus dan ginjal.<sup>6</sup>

Vitamin D merupakan hormon 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. Zat besi berperan penting untuk peredaran oksigen di dalam darah dan pada sistem enzim dalam tubuh, seperti sintesis kolagen dan metabolisme vitamin D, serta sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan dan fungsi sel, sehingga defisiensi zat besi dapat mempengaruhi metabolisme tulang.<sup>7</sup>

Secara normal di dalam tubuh terjadi suatu tahapan yang disebut remodeling tulang, yaitu suatu proses per-

gantian tulang yang sudah tua untuk diganti dengan tulang baru. Proses ini meliputi dua aktivitas, yaitu proses pembongkaran tulang kemudian diikuti oleh pembentukan tulang baru dan melibatkan dua sel utama yaitu osteoblas dan osteoklas yang berasal dari sumsum tulang belakang. Normalnya, kecepatan resorpsi dan formasi tulang berlangsung dalam kecepatan yang sama sehingga massa tulang tetap konstan.<sup>4</sup>



**Gambar 1** Tahap-tahap remodeling tulang

Proses remodeling tulang merupakan suatu siklus yang meliputi tahapan yang kompleks, yaitu 1) tahap aktivasi yaitu tahap interaksi antara prekursor osteoblas dan osteoklas, kemudian terjadi proses diferensiasi, migrasi dan fusi *multinucleated osteoclast*, dan osteoklas yang terbentuk kemudian akan melekat pada permukaan matrik tulang dan akan dimulai tahap berikutnya, 2) resorpsi adalah tahap pada saat osteoklas akan mensekresi ion hidrogen dan enzim lisosom terutama *cathepsin K* dan akan mendegradasi seluruh komponen matriks tulang termasuk kolagen. Setelah terjadi resorpsi maka osteoklas akan membentuk lekukan atau cekungan tidak teratur yang biasa disebut lakuna Howship pada tulang trabekula dan saluran haversian pada tulang kortikal; 3) reversal, adalah tahap pada waktu permukaan tulang sementara tidak didapatkan adanya sel kecuali beberapa sel mononuclear yakni makrofag, kemudian terjadi degradasi kolagen lebih lanjut dan terjadi deposisi *proteoglycan* untuk membentuk *coment line* yang akan melepaskan faktor pertumbuhan untuk dimulainya tahap formasi; 4) formasi, adalah tahap terjadinya proliferasi dan diferensiasi prekursor osteoblas yang dilanjutkan dengan pembentukan matrik tulang yang baru dan akan mengalami mineralisasi. Tahap formasi akan berakhir ketika defek atau cekungan yang dibentuk oleh osteoklas telah diisi.<sup>8,9</sup>

Salah satu cara untuk meningkatkan efektivitas penggunaan *C. vulgaris* pada proses remodeling tulang

adalah dengan melakukan formulasi ekstrak *C. vulgaris* dalam bentuk gel.<sup>10</sup> Gel merupakan sediaan semi padat yang jernih, tembus cahaya dan mengandung zat aktif. Komponen penting sediaan gel adalah *gelling agent* dalam formulasi sebuah gel umumnya digunakan karbopol, gom xanthan dan turunan selulosa seperti karboksimetil selulosa (CMC) dan hidroksipropilmetil selulosa sebagai *gelling agent*.<sup>11</sup>

Pada penelitian ini akan dibuktikan pengaruh penambahan ekstrak gel *C. vulgaris* aman digunakan dalam proses remodeling tulang.

## METODE

### Pembuatan bubuk *chlorella vulgaris*

Pengkulturan bahan alga mikro *C. vulgaris* dilakukan selama 7 hari pada tabung erlenmeyer 200-300 mL. Setelah 7 hari, kultur diberikan soda api yang telah diencerkan dengan air untuk memisahkan air dengan fitoplankton. Setelah 15 menit akan terbentuk pengendapan, artinya fitoplankton dan air telah terpisah. Air laut kemudian dibuang, endapan disaring dan dijemur dengan sinar matahari langsung selama 3 hari hingga berbentuk gel keras. Gel tersebut kemudian di-blend hingga halus dan disaring lagi untuk mendapatkan bubuk *C. vulgaris*.

### Pembuatan sediaan gel konsentrasi 5%, 10%, 15%

Timbang bahan-bahan berupa ekstrak *C. vulgaris* 5 g, propilenglikol 10 g, gliserol 10 g, metil paraben 0,12 g, NaCMC 3 g dan akuades 100 mL pada timbangan elektrik. Akuades dipanaskan di dalam gelas kimia di atas kompor listrik, lalu akuades dipanaskan di bawah alat homogenizer dan dispersikan dengan *gelling agent* berupa NaCMC, aduk hingga akuades dan *gelling agent* menjadi homogeny, tambahkan propilenglikol, gliserol dan metil paraben dan aduk hingga homogen dan terbentuk basis gel. Setelah itu tambahkan ekstrak *C. vulgaris* ke dalam basis gel. Aduk hingga basis gel dan ekstrak *C. vulgaris* menjadi homogen dan membentuk sediaan gel konsentrasi 5%.

Uji organoleptik dilakukan secara visual dan dilihat secara langsung bentuk, warna dan bau, dari gel yang dibuat. Gel biasanya jernih dengan konsentrasi setengah padat.<sup>12,13</sup> Uji daya sebar ditujukan untuk mengetahui besar kemampuan menyebar gel pada kulit.<sup>14</sup>

Pengukuran pH sediaan ditujukan untuk menunjukkan pH gel yang harus dicapai agar optimal saat penggunaan. Keasaman yang baik adalah yang mendekati netral untuk di daerah mulut yaitu 6-7, agar tidak mengganggu jaringan seperti gigi dan gingiva.<sup>13</sup> Gel ekstrak *Chlorella* konsentrasi 5% diukur pH-nya dengan pH meter yang sudah distandarisasi.

Uji viskositas bertujuan untuk mengetahui kekentalan dari sediaan gel dengan viskometer. Viskositas adalah

suatu pernyataan “tahanan untuk mengalir” dari suatu sistem yang mendapatkan suatu tekanan. Makin kental suatu cairan makin besar gaya yang dibutuhkan untuk membuatnya mengalir pada kecepatan tertentu.<sup>15</sup> Pengamatan uji viskositas dilakukan tiga kali untuk mengetahui apakah ada perubahan viskositas sediaan gel. Uji jenis aliran atau *rheology* dilakukan dengan menggunakan viskometer Brookfield dengan kecepatan 5, 10, 20, 50, dan 100 rpm yang kemudian dicatat hasilnya. Setelah itu dihitung tegangan geser atau *shearing stress* (F) dengan rumus  $F = \text{viskositas} \times G$ . G adalah laju geser atau *rate of shear* yang didapatkan melalui rumus  $G = \text{rpm} \times 1,703$ .<sup>15</sup>

Uji homogenitas dilakukan dengan cara sampel gel dioleskan pada sekeping kaca atau bahan transparan lain yang cocok, sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar.<sup>12</sup> Uji ini dilakukan dengan meletakkan sampel gel ekstrak *C. vulgaris* konsentrasi 5% pada sekeping kaca transparan dan diamati apakah sediaan tersebut homogen. Uji sentrifugasi dilakukan untuk mengamati perubahan fase pada gel dan mengetahui kestabilan gel setelah pengocokan yang kuat.<sup>16</sup> Pengamatan uji mekanik atau uji sentrifugasi merupakan salah satu indikator kestabilan fisik gel. Sampel gel ekstrak *C. vulgaris* konsentrasi 5% disentrifugasi dengan electronic centrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit.

#### Uji iritasi sediaan gel *C. vulgaris* terhadap hewan uji

Evaluasi uji iritasi sediaan ekstrak gel *C. vulgaris* dilakukan dengan menggunakan metode dari CFTA; menggunakan 3 ekor tikus wistar pada setiap konsentrasi; tikus putih jenis wistar yang memiliki berat badan 120 g. Sebelum perlakuan, tikus diadaptasikan dengan lingkungan dan makanan selama 7 hari. Hewan uji diberi makan dan minum setiap hari yang diidentifikasi melalui zat pewarna makanan di punggung tikus selama 6 hari.<sup>17</sup>

**Tabel 1** Tabel skor iritasi mukosa mulut dan *labial junction*

Rating	Mukosa mulut	Labial junction
0	Negatif	Negatif
1	Diskolorisasi, sedikit pengelupasan	Sedikit kemerahan, pengelupasan, mukosa kering
2	Pengelupasan pada beberapa area	Nyeri, mukosa kering dan kasar
3	ulserasi	Pecah dan berdarah

**Tabel 2** Daya sebar dan pH sediaan ekstrak gel *C. vulgaris*

Konsentrasi	Daya sebar (mm <sup>2</sup> )	pH
5%	154,86	9,49
10%	131,66	9,33
15%	126,73	9,17

Jenis data yang digunakan pada penelitian ini adalah data primer, dan dianalisis melalui metode deskriptif.

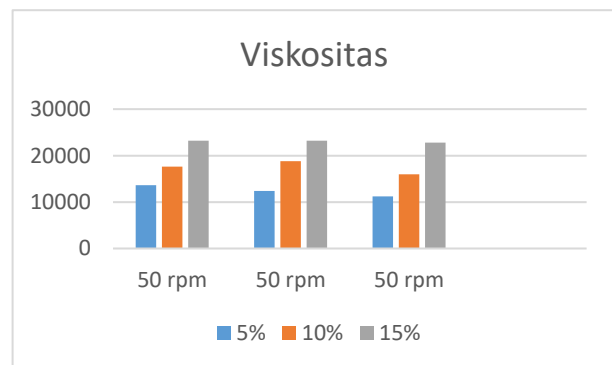
## HASIL

Uji daya sebar bertujuan untuk mengetahui kemampuan gel menyebar pada kulit. Dari tabel 2 terlihat bahwa gel dengan konsentrasi 5% memiliki daya sebar tertinggi, yaitu 154,86 mm<sup>2</sup>. Sedangkan dari uji pH diketahui bahwa sediaan gel 5%, 10%, dan 15% memiliki sifat basa yang disebabkan oleh bahan aktif *C. vulgaris* memiliki kadar basa yang tinggi yakni 10.

Hal jenis aliran menunjukkan bahwa gel konsentrasi 5%, 10% dan 15% memiliki aliran non-Newtonian yang berarti suatu cairan tidak menunjukkan hubungan linear antara perubahan gaya *shearing stress* dengan viskositasnya. Kurva menunjukkan lengkung yang berarti, jenis aliran adalah pseudoplastis yang berarti vis-

**Tabel 3** Hasil uji viskositas gel ekstrak *C. vulgaris*

GEL	5%	13.600
		12.400
		11.200
	10%	17.600
		18.800
		16.000
	15%	23.200
		23.200
		22.800

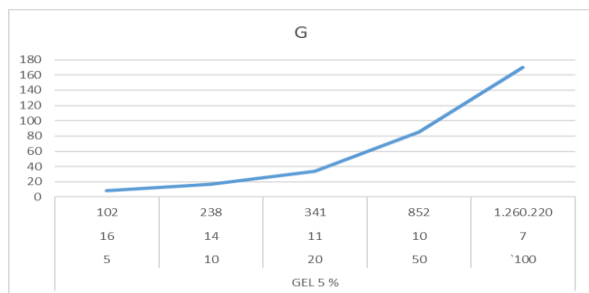


**Gambar 2** Grafik nilai viskositas

**Tabel 4** Hasil uji jenis aliran gel *C. vulgaris*

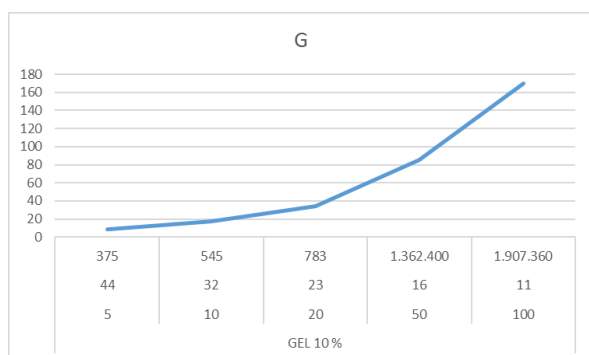
Formula kecepatan viscositas		F	G
GEL 5%	5	16.000	102.180
	10	14.000	238.420
	20	11.000	340.660
	50	10.000	851.500
	100	7.400	1.260.220
GEL 10%	5	44.000	374.660
	10	32.000	544.960
	20	23.000	783.380
	50	16.000	1.362.400
	100	11.200	1.907.360
GEL 15%	5	64.000	544.960
	10	48.000	817.440
	20	33.000	1.123.980
	50	20.400	1.737.060
	100	13.400	2.282.020

kositas gel berkurang saat diberikan gaya maka, yang berarti gel ini mengalami *shear thinning*.

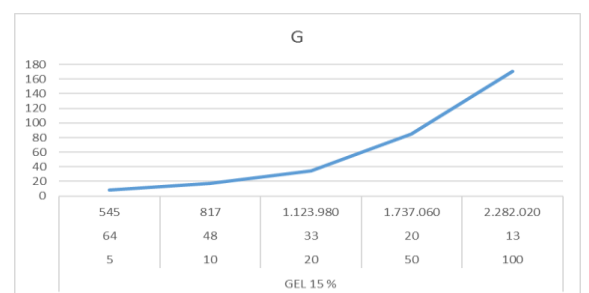


**Gambar 3** Rheogram kurva gel konsentrasi 5%

Data pada tabel 4 dibuat menjadi kurva yang menunjukkan bahwa gel konsentrasi 5% memiliki aliran Non-Newtonian yang berarti suatu cairan tidak menunjukkan hubungan linear antara perubahan gaya *shearing stress* dengan viskositasnya. Kurva menunjukkan lengkung yang berarti, jenis aliran adalah pseudoplastis yaitu viskositas gel berkurang saat diberikan gaya, yang berarti gel ini mengalami *shear thinning*.



**Gambar 4** Rheogram gel konsentrasi 10%



**Gambar 5** Rheogram gel konsentrasi 15%

Hasil kurva ini menunjukkan bahwa gel konsentrasi 10% memiliki aliran non-Newtonian yang berarti cairan tidak menunjukkan hubungan linear antara perubahan gaya *shearing stress* dengan viskositasnya. Viskositas gel berkurang saat diberikan gaya, maka gel ini

mengalami *shear thinning* dan jenis aliran ini disebut pseudoplastis.

Hasil kurva ini menunjukkan bahwa gel konsentrasi 15% memiliki aliran non-Newtonian yang berarti suatu cairan tidak menunjukkan hubungan linear antara perubahan gaya *shearing stress* dengan viskositasnya. Viskositas gel berkurang saat diberikan gaya maka gel ini mengalami *shear thinning*, jenis aliran ini disebut pseudoplastis.

Uji homogenitas menunjuk bahwa gel *C.vulgaris* konsentrasi 5%, 10% dan 15% tidak memiliki bentuk yang tidak homogen karena serbuk ekstrak tidak larut, sehingga menghasilkan bentuk sediaan yang berbintik hijau.

Dari data hasil uji organoleptis tampak bahwa gel dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15% memiliki bentuk khas yakni semi padat. Warna sediaan tampak semakin gelap seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak: gel dengan konsentrasi 15% memiliki warna paling gelap dibandingkan konsentrasi 5%. Hal ini disebabkan oleh semakin banyak ekstrak yang digunakan maka warna pada sediaan gel akan semakin pekat.

Hasil uji pada gel konsentrasi 5%, 10% dan 15% adalah sediaan gel yang telah disentrifugasi selama 5 menit penyimpanan tidak terjadi pemisahan fase sehingga sediaan gel yang dihasilkan tetap stabil.

Hasil uji iritasi yakni skor nilai iritasi diperoleh dengan cara merata-ratakan skor uji iritasi setiap hari; nilai 0-0,4 berarti iritasi sangat ringan, 0,5-1,0 iritasi ringan, 1,1-2,0 iritasi sedang, lebih dari 2,0 iritasi berat. Hasil uji gel konsentrasi 5%, 10% dan 15% diperoleh hasil 0, yang artinya gel konsentrasi 5%, 10% dan 15% tidak mengiritasi atau iritasi sangat ringan.<sup>18</sup>

## PEMBAHASAN

Parameter daya sebar gel yang baik yaitu 5-7 cm sedangkan daya sebar gel pada ketiga formula berkisar 3,4-3,9 cm. Salah satu faktor yang mempengaruhi daya sebar gel adalah jumlah dan kekuatan matriks gel. Semakin banyak dan kuat matriks gel maka daya sebar gel akan berkurang.<sup>12</sup>

Tingkat keasaman atau pH yang baik adalah yang mendekati netral untuk di daerah mulut adalah 6-7, agar tidak mengganggu jaringan di daerah tersebut seperti gigi dan gingiva sehingga semua sediaan berada di atas pH normal mulut. Akan tetapi sediaan gel konsentrasi 15% memiliki tingkat basa yang paling rendah yakni 9,17 sehingga memiliki hasil paling memuaskan dibandingkan konsentrasi lain.<sup>13</sup>

**Tabel 5** Hasil uji sentrifugasi, homogenitas dan uji organoleptis gel ekstrak *chlorella vulgaris*

Formula	Bentuk	Warna	Bau	Homogenitas	Centrifugasi
GEL 5%	Semi padat	Hijau	Khas ekstrak	Tidak terjadi pemisahan	Tidak homogen
10%	Semi padat	Hijau	Khas ekstrak	Tidak terjadi pemisahan	Tidak homogen
15%	Semi padat	Hijau tua	Khas ekstrak	Tidak terjadi pemisahan	Tidak homogen

Dari viskositas sediaan gel yang dihasilkan, ditunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi NaCMC, maka viskositas sediaan semakin meningkat. Peningkatan jumlah *gelling agent* dapat memperkuat matriks penyusun gel sehingga menyebabkan kenaikan nilai viskositas.<sup>8</sup> Nilai viskositas sediaan gel yang baik yaitu 2000-4000cps.<sup>9</sup> Rerata viskositas dari gel 5% adalah 12.400, 10% adalah 17.466, dan 15% adalah 23.066, sehingga viskositas yang baik adalah gel dengan konsentrasi 5% yang memiliki viskositas terendah.<sup>18</sup>

Sediaan memiliki bau yang sama baik pada gel konsentrasi 5%, 10% dan 15% yakni bau khas ekstrak

*C. vulgaris*, berupa bau amis laut, sehingga gel konsentrasi 15% dianggap paling baik karena memiliki bentuk semi padat yang kental dan memiliki warna yang paling menonjol.<sup>10,13</sup>

Berdasarkan hasil penelitian ini disimpulkan bahwa gel dengan konsentrasi 5% merupakan gel dengan viskositas yang paling baik karena memiliki daya sebar paling rendah, viskositas gel yang memenuhi standar, bentuk, warna dan bau yang sesuai dan tidak terjadi pemisahan fase pada saat dilakukan pengocokan sampel; juga semua konsentrasi tidak mengiritasi mukosa mulut dari hewan uji.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Apriliyanti S, Soeprbowati TR, Yulianto B. Hubungan kemelimpahan *Chlorella* sp dengan kualitas lingkungan perairan pada skala semi masal di BBBPBAP Jepara. *Jurnal Ilmu Lingkungan* 2016; 14(2):77-8.
2. Aulia N, Raya I, Natsir H. Kultivasi mikroalga laut *chlorella vulgaris* sebagai penghasil biomassa kaya EPA dan DHA untuk fortifikasi sosis (so-fit); 2014
3. Safi C, Zebib B, Merah O, Pontalier PY, Vaca-Gracia C. Morphology, composition, production, processing, and applications of *chlorella vulgaris*. *Renewable and sustainable energy review* 2014; 35:266-7, 269-72.
4. Sihombing I, Wangko S, Kalangi SJR. Peran estrogen pada remodeling tulang. *Jurnal biomedik* 2012;4(3):19-20,21,23.
5. Beto JA. The role of calcium in human aging. *Clin Nut Res* 2015; 4(1):1-8.
6. Fukumoto S. Phosphate metabolism and Vitamin D. *J Int Bone Mineral Soc* 2014; 3:1-3.
7. Toxqui L, Vaquero MD. Chronic iron deficiency as emerging risk factor for osteoporosis. *Department of Metabolism and Nutrition, Institute of Food Science, Technology and Nutrition* 2015; 7:2335-6.
8. Walsh JS. Normal bone physiology, remodeling and its hormonal regulation. *Surgery* 2014;33(1):1-3.
9. Elsayed SA, Bhimji SS. Physiology, Bone. *NCBI bookshelf*, 2017.p.1-2.
10. Schimdt GJ, Kobayashi C, Sandell LJ, Ornitz DM. Fibroblast growth factor expression during skeletal fracture healing in mice. *NIH* 2009; 238(3):766-74.
11. Cetika RK, Ameliana L, Winarta. Optimasi Gom Xanthan dan natrium karboksimetil selulosa terhadap mutu fisik dan laju pelepasan gel meloksikam in vitro. *E-Journal Pustaka Kesehatan* 2015; 3 (1):50-1.
12. Astuti DP, Husni P, Hartono K. Formulasi dan uji stabilisasi fisik sediaan gel antiseptik tangan minyak atsiri bunga lavender. *Farmaka* 2016; 15(1): 177-84.
13. Prasetya F. Karakteristik dan stabilitas sediaan gel mulut berbahan aktif ekstrak daun sirih hitam berbasis hydroxyl ethyl cellulose (HEC). *J Trop Pharm Chem* 2013; 2(2):85-9.
14. Tunjungsari D, Sulaiman TM, Munawarah R. Formulasi gel ekstrak etanolik buah mahkota dewa (*phaleria mavrocarpa* (Scheff) Boerl). *Naskah publikasi* 2012: 6-12.
15. Moechtar. *Farmasi fidika bagian larutan dan system disperse*. Yogyakarta: Gadjahmada University Press; 1989.p.157-87
16. Nisa ONL, Hermadi AVL, Khoiriyah H, Purwajati N, Asari N. Uji stabilitas gel ekstrak daun pisang. *University Research Colloquium* 2017: 224-7
17. Fukui T, Masuno K, Makita Y, Fujiwara S, Shiota G, Imamura Y, et al. Evaluation of oral mucosa irritation produced by ozone gel. *J Hard Tissue Biol* 2014; 24(1): 104-5
18. Ardana M, Aeyni V, Ibrahim A. Formulasi dan optimasi basis gel HPMC (hydroxyl propyl methyl cellulose) dengan berbagai konsentrasi. *J Troph Pharm Chem* 2015; 3(2):101-6