



Inovasi *Scaffold* Hidrogel Berbasis Selulosa *Eichhornia* sp. dengan Biomassa *Chlorella vulgaris* untuk Terapi Ulkus Diabetikum

Hydrogel Scaffold Innovation from *Eichhornia* sp. Cellulose with *Chlorella vulgaris* Biomass for Diabetic Ulcer Therapy

Pamastadewi Pryankha Hijrianto¹, Keanu Saputra Valenka Darmawan², Gresmawarrenes Jamuss³, Kamilah Kusuma Maharani³, Lidya Oktaviani⁴, Tyas Ikhsan Hikmawan^{1*}

¹*Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada*

Jl. Teknika Selatan, Sekip Utara, Bulaksumur, Yogyakarta, Indonesia

²*Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada*

Jl. Flora No. 1, Bulaksumur, Yogyakarta, Indonesia

³*Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada*

Jl. Sekip Utara, Sendowo, Sinduadi, Yogyakarta, Indonesia

⁴*Teknik Industri, Fakultas Teknik, Universitas Gadjah Mada*

Jl. Grafika No.2, Sendowo, Sinduadi, Mlati, Sleman, Yogyakarta, Indonesia

Email: tyas.ikhsan@ugm.ac.id

*Penulis Korespondensi

Abstract

Diabetic ulcers may lead to amputation and mortality due to delayed wound closure. This condition is further exacerbated by the use of conventional dressings, which can promote exudate accumulation and increase the risk of infection. As an alternative wound dressing, hydrogel scaffolds can maintain a moist wound environment while helping to prevent infection. This study aimed to evaluate the characteristics of hydrogel scaffolds based on water hyacinth cellulose (*Eichhornia* sp.) containing *Chlorella vulgaris* biomass at concentrations of 0.05%, 0.3%, and 0.8%, as well as their effects on wound healing. The methodology included the preparation of *Chlorella vulgaris* biomass, cellulose purification, hydrogel scaffold formulation, characterization tests, and wound healing and histological assays. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test. The results showed that the 0.8% algal hydrogel scaffold (AHS) exhibited strong hydrogen bonding, macroporosity with dispersed *Chlorella vulgaris* cells, highest absorption capacity, good mechanical strength, an inhibition zone diameter of 0.72 cm, 90% weight loss within 8 days, and wound healing within 14 days, reaching the remodeling phase. In conclusion, the 0.8% AHS exhibited the best overall characteristics and promoted wound healing to the remodeling stage within 14 days.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, Water hyacinth, Hydrogel scaffold, Diabetic ulcer

Abstrak

Ulkus diabetikum dapat menyebabkan amputasi dan kematian akibat lambatnya proses penutupan luka. Kondisi ini diperparah oleh penggunaan perban konvensional yang berpotensi menimbulkan akumulasi eksudat dan meningkatkan risiko infeksi. Sebagai alternatif, *scaffold* hidrogel dapat digunakan untuk menjaga kelembapan luka sekaligus membantu mencegah infeksi. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi karakteristik *scaffold* hidrogel berbasis selulosa eceng gondok (*Eichhornia* sp.) pada konsentrasi biomassa *Chlorella vulgaris* 0,05%, 0,3%, dan 0,8%, serta dampaknya terhadap penyembuhan luka. Metode mencakup preparasi biomassa *Chlorella vulgaris*, purifikasi selulosa, formulasi *scaffold* hidrogel, uji karakteristik, serta uji penyembuhan dan histologi. Analisis statistik dengan *one-way* ANOVA serta uji lanjut Tukey. Hasil menunjukkan *scaffold* hidrogel alga (SHA) 0,8% memiliki ikatan hidrogen kuat, makropori dengan persebaran sel *Chlorella vulgaris*, daya serap tertinggi, kekuatan mekanik baik, diameter daya hambat 0,72 cm, penurunan bobot 90% dalam 8 hari, serta luka yang sembuh dalam 14 hari dan mencapai tahap *remodeling*. Dapat disimpulkan bahwa SHA 0,8% memiliki karakteristik terbaik secara keseluruhan dan penyembuhan luka mencapai tahap *remodeling* dalam waktu 14 hari.

Kata kunci: *Chlorella vulgaris*, Eceng gondok, *Scaffold* hidrogel, Ulkus diabetikum

Disubmit: 26 Desember 2025; Direvisi: 15 Juni 2026; Diterima: 20 Juni 2026

Copyright© 2026. Pamastadewi Pryankha Hijrianto, Keanu Saputra Valenka Darmawan, Gresmawarrenes Jamuss, Kamilah Kusuma Maharani, Lidya Oktaviani, Tyas Ikhsan Hikmawan



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

How to Cite: Hijrianto, P. P., Darmawan, K. S. V., Jamuss, G., Maharani, K. K., Oktaviani, L., & Hikmawan, T. I. (2026). Inovasi *Scaffold* Hidrogel Berbasis Selulosa *Eichhornia* sp. dengan Biomassa *Chlorella vulgaris* untuk Terapi Ulkus Diabetikum. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 11(2), 182-197.

Pendahuluan

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik kronik yang ditandai oleh hiperglikemia akibat gangguan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya (American Diabetes Association, 2025). Salah satu komplikasi serius yang sering ditemui oleh penderita DM adalah *ulkus diabetikum*, yaitu luka kronis pada ekstremitas bawah yang disebabkan oleh neuropati perifer, gangguan mikrosirkulasi, serta infeksi sekunder (Sari *et al.*, 2018). Kondisi ini menyebabkan penurunan kualitas hidup pasien, peningkatan risiko amputasi, serta potensi kematian. Di Indonesia, sekitar 15% penderita diabetes melitus mengalami ulkus kaki diabetik, dengan angka amputasi mencapai 30% dan angka mortalitas sebesar 32% (Oktalia *et al.*, 2021). Fakta tersebut menunjukkan bahwa inovasi terapi yang efektif, aman, dan berkelanjutan sangat dibutuhkan untuk mempercepat penyembuhan luka diabetikum.

Perawatan ulkus diabetikum pada umumnya berfokus pada pengendalian infeksi dan penggunaan balutan luka konvensional. Pendekatan tersebut belum mampu memberikan hasil optimal karena terbatasnya kemampuan regenerasi jaringan dan lamanya waktu penyembuhan (Agarwal *et al.*, 2022). Keterbatasan ini mendorong pengembangan biomaterial regeneratif yang dapat menciptakan kondisi mikro lingkungan luka yang mendukung penyembuhan. Salah satu inovasi yang banyak dikembangkan adalah *scaffold* hidrogel, yakni biomaterial tiga dimensi (3D) berpori dengan kemampuan mempertahankan kelembapan, meningkatkan migrasi sel fibroblas, dan mendukung pembentukan jaringan baru (Lopez-Gutierrez *et al.*, 2023). Hidrogel sintesis seperti natrium poliakrilat memang memiliki daya serap tinggi, namun sifatnya yang sulit terurai dan potensi meninggalkan residu kimia menjadikannya kurang ramah lingkungan (Jahan *et al.*, 2023). Oleh sebab itu, pengembangan *scaffold* hidrogel berbahan alami menjadi alternatif yang menjanjikan karena menawarkan biodegradabilitas tinggi serta kompatibilitas biologis yang baik.

Pemanfaatan selulosa dari eceng gondok (*Eichhornia* sp.) menunjukkan potensi besar sebagai bahan dasar hidrogel alami yang

ramah lingkungan. Tanaman air ini mengandung selulosa hingga 64,51% (Tanpichai *et al.*, 2022). Struktur selulosa eceng gondok memungkinkan pembentukan matriks hidrogel yang mampu menyerap eksudat luka dan menjaga kelembapan jaringan, sehingga mendukung proses regenerasi sel. Pemanfaatan eceng gondok juga memiliki nilai ekologis karena membantu mengendalikan populasi tanaman invasif ini di perairan sekaligus meningkatkan nilai ekonominya sebagai sumber biomaterial berkelanjutan.

Peningkatan performa biologis hidrogel berbasis selulosa dapat dicapai melalui integrasi biomassa mikroalga *Chlorella vulgaris* sebagai bahan bioaktif tambahan. Mikroalga ini diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti karotenoid (*astaxanthin*, *lutein*, dan *canthaxanthin*), vitamin, serta asam lemak chlorellin yang berperan sebagai antioksidan dan antibakteri alami (Ilieva *et al.*, 2024). Penelitian oleh Wu *et al.* (2022) membuktikan bahwa *Chlorella* sp. mampu memperbaiki mikro-lingkungan luka diabetik melalui peningkatan oksigenasi jaringan, penurunan stres oksidatif, dan stimulasi angiogenesis. Penelitian lain yang dilakukan oleh Cui *et al.* (2025) menunjukkan bahwa hidrogel berbasis *Chlorella* sp. dapat mempercepat regenerasi jaringan dengan meningkatkan deposisi kolagen dan proliferasi fibroblas. Selain itu, Chen *et al.* (2023) melaporkan bahwa sistem hidrogel mikroekologis yang menggabungkan *Chlorella* sp. dan *Bacillus subtilis* mampu menghasilkan suplai oksigen berkelanjutan serta menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Sinergi antara aktivitas biologis dan fungsi regeneratif tersebut menjadikan *C. vulgaris* komponen potensial dalam meningkatkan efektivitas hidrogel berbasis selulosa eceng gondok terhadap penyembuhan luka serta perlindungan jaringan dari infeksi dan stres oksidatif.

Kestabilan struktur dan karakter mekanik hidrogel dapat diperkuat melalui penambahan asam fumarat sebagai agen pengikat silang (*crosslinker*). Senyawa ini membentuk ikatan ester yang kuat namun tetap dapat terdegradasi secara alami, menghasilkan hidrogel dengan porositas tinggi, elastisitas baik, dan tingkat toksisitas rendah (Uyanga dan Daoud, 2021). Kehadiran asam fumarat juga mempertahankan fleksibilitas serta permeabilitas yang diperlukan bagi pertukaran

gas dan nutrisi pada area luka. Kombinasi antara selulosa eceng gondok sebagai matriks dasar, biomassa *C. vulgaris* sebagai agen bioaktif, dan asam fumarat sebagai pengikat silang diharapkan menghasilkan *scaffold* hidrogel yang memiliki keseimbangan optimal antara kekuatan struktural, aktivitas biologis, dan biodegradabilitas. Integrasi ketiga komponen ini membuka peluang bagi pengembangan biomaterial regeneratif yang inovatif, efektif, dan berkelanjutan dalam terapi ulkus diabetikum.

Inovasi *scaffold* hidrogel berbasis bahan alami ini berupaya menjawab tantangan klinis dalam penanganan ulkus diabetikum, khususnya keterbatasan terapi konvensional yang belum mampu mengatasi masalah regenerasi jaringan dan resistensi mikroba secara efektif. Pengembangan hidrogel ramah lingkungan dari eceng gondok dan *C. vulgaris* diharapkan mampu menghadirkan biomaterial dengan sifat fisikokimia yang optimal, biokompatibilitas tinggi, serta kemampuan mendukung regenerasi jaringan luka melalui mekanisme hidrasi dan perlindungan antibakteri. Hasil dari penelitian ini diharapkan berkontribusi terhadap pengembangan teknologi biomaterial hijau (*green health technology*) berbasis sumber daya hayati Indonesia yang tidak hanya efektif secara klinis, tetapi juga berkelanjutan bagi lingkungan.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat Riset

Alat bedah steril, autoklaf (Tuttnauer 2340E), *box* plastik, bunsen, cawan petri (diameter 90 mm), corong kaca, *cabinet dryer*, *centrifuge*, CO₂ *incubator*, drigalski, ELISA *reader* Multiskan FC 96), erlenmeyer 100 mL, gelas beaker 100 mL dan 250 mL, gelas ukur 100 mL, *grinder*, inkubator, *laminar air flow* (Esco Airstream Gen 3), *lyophilizer* (Labfreez FD-10), kontainer, kuvet, *magnetic stirrer*, jangka sorong, mikropipet, mikroskop, mistar, ose bermata, pinset, pipet ukur 10 mL, pipet tetes, *scanning electron microscope* (Hitachi S3000H), silet, spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific Genesys 180), spektroskopi ATR-FTIR (Nicolet 5DX), suntikan 1 mL, tabung konikal, tabung reaksi, timbangan

analitik, tip mikropipet, *universal testing machine* (Velltax VX-WDW-02), *vortex*, dan 96-well plate.

Bahan Riset

Agar LB, air deionisasi, alkohol 70%, akuades, asam fumarat, biakan *C. vulgaris*, *citrate buffer* 50 mM, darah segar, DMSO, *effective microorganism* 4 (EM4), HCl 5%, *scaffold* hidrogel (SH), *scaffold* hidrogel dengan biomassa alga (SHA), streptozotocin (Santa Cruz Biotechnology), ketamin-xylazin, kultur bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Lactose Broth* (LB), larutan toluena-etanol (2:1), larutan urea 12%, media kultur *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM), mencit BALB/c, *neutral buffered formalin*, *thiazolyl blue tetrazolium bromide* (MTT) 0.5 mg/mL (Sigma-Aldrich), NaClO 3%, NaOH 1% dan 7%, parafin, *Phosphate Buffered Saline* (PBS), povidon-iodin 10%, pewarna *Hematoxylin* dan *Eosin* (HE), serat eceng gondok, spirtus, dan tanah.

Metode Pengumpulan Data

Preparasi Biomassa *C. vulgaris*

Biomassa *C. vulgaris* diperoleh dari kultur cair yang kemudian disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Biomassa yang didapatkan dicuci tiga kali menggunakan *Phosphate Buffered Saline* (PBS) (Agarwal *et al.*, 2022). Sebanyak 6,4 g pelet hasil sentrifugasi dikeringkan dengan *freeze dryer* selama 8 jam hingga diperoleh biomassa kering.

Purifikasi Selulosa Eceng Gondok (*Eichhornia* sp.)

Eceng gondok kering didapatkan melalui petani dari Waduk Mulur, Sukoharjo. Eceng gondok yang digunakan adalah dalam kondisi kering, warna cokelat muda, tanpa bintik hitam, dan tidak tampak area yang lembab. Eceng gondok yang telah sesuai dengan kriteria dihaluskan di dalam *grinder*. Bubuk serat eceng gondok yang telah didapatkan selanjutnya dimurnikan dengan proses *dewaxing* menggunakan larutan toluena-etanol (2:1) pada suhu 75°C selama 3 jam, kemudian dicuci dan dikeringkan. Proses *bleaching* dilakukan dua kali menggunakan NaClO 3% pada suhu 80°C selama 2 jam, diikuti perlakuan alkalisasi NaOH 1% pada suhu 60°C selama 2 jam untuk menghilangkan

lignin dan hemiselulosa (Tanpichai *et al.*, 2022). Serat hasil pemurnian kemudian dihidrolisis menggunakan HCl 5% pada 60°C selama 6 jam dan dikeringkan hingga diperoleh serat selulosa murni.

Formulasi Scaffold Hidrogel

Formulasi scaffold hidrogel diawali dengan melarutkan 3 gram serat selulosa dengan larutan NaOH 7% dan urea 12% pada suhu -12°C hingga larut sempurna (Tanpichai *et al.*, 2022). Larutan asam fumarat 0,5% ditambahkan sebagai crosslinker sambil terus diaduk (Uyanga dan Daoud, 2021). Biomassa *C. vulgaris* kemudian dimasukkan sesuai variasi perlakuan dan diaduk hingga homogen (Agarwal *et al.*, 2022). Campuran dicetak ke dalam tabung reaksi sebanyak 2 mL dan cawan petri berdiameter 9 cm, lalu diinkubasi pada suhu 25°C selama tiga hari hingga polimerisasi sempurna sehingga didapatkan Scaffold Hidrogel (SH) dan Scaffold Hidrogel Alga (SHA). Kelima perlakuan yaitu SH(-) tanpa penambahan senyawa aktif, SH(+) dengan penambahan povidon-iodin 10%, SHA 0,05%, SHA 0,3%, dan SHA 0,8% diformulasikan sesuai dengan Tabel 1 di bawah ini. Setelahnya, hidrogel dicuci menggunakan air deionisasi untuk menghilangkan sisa reagen yang tidak bereaksi.

Analisis Karakteristik Polimer Scaffold Hidrogel dengan Spektroskopi FTIR

Spectroscopy Fourier Transform Infrared (FTIR) digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi dan interaksi kimia dalam matriks hidrogel. Teknik ini mendeteksi pita serapan khas yang sesuai dengan frekuensi getaran ikatan antar-atom dalam struktur organik atau polimer. Spektrum FTIR diperoleh menggunakan instrumen ATR-FTIR dengan resolusi 4 cm⁻¹ pada rentang panjang gelombang 4000–500 cm⁻¹ (Agarwal *et al.*, 2022). Analisis spektrum dilakukan untuk

membandingkan gugus fungsi dan interaksi kimia.

Analisis Morfologi Permukaan dan Struktur Scaffold Hidrogel dengan SEM

Morfologi permukaan dan struktur pori internal hidrogel diamati menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM). Sebelum pengamatan, sampel dikeringkan menggunakan metode liofilisasi dan dilapisi dengan bahan konduktif di bawah kondisi vakum guna meningkatkan konduktivitas (Agarwal *et al.*, 2022). Pengamatan dilakukan pada tegangan percepatan 5–15 kV dengan perbesaran yang diinginkan. Citra hasil SEM digunakan untuk menilai distribusi ukuran pori, keterhubungan antar pori, serta homogenitas struktur.

Uji Daya Serap dengan Metode Gravimetri

Uji daya serap hidrogel dilakukan menggunakan metode gravimetri untuk menentukan kapasitas penyerapan dan retensi cairan. Sampel *hydrogel disc* dengan berat awal (*W₀*) direndam dalam darah segar pada suhu 37°C (Agarwal *et al.*, 2022). Pada interval waktu tertentu, sampel diambil, dikeringkan dari cairan berlebih, kemudian ditimbang kembali (*W_t*). Rasio pembengkakan atau *swelling ratio* (SR) dihitung menggunakan rumus:

$$SR(\%) = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100\%$$

Uji Kekuatan Mekanik (Uji Kuat Tekan)

Kekuatan mekanik dan elastisitas hidrogel diuji menggunakan *Universal Testing Machine*. Sampel berbentuk silinder dengan diameter 34 mm dan tinggi 15 mm ditempatkan di antara dua pelat sejajar dan diberi tekanan pada suhu ruang (Agarwal *et al.*, 2022). Pengujian ini bertujuan menilai kemampuan *scaffold* menahan deformasi saat diaplikasikan serta kesesuaiannya sebagai bahan penutup luka dengan fleksibilitas dan integritas struktural yang baik.

Tabel 1. Formulasi *Scaffold* Hidrogel

Bahan	Formulasi % (b/v)				
	<i>Scaffold</i> Hidrogel (-)	<i>Scaffold</i> Hidrogel (+)	<i>Scaffold</i> Hidrogel Alga 0,05%	<i>Scaffold</i> Hidrogel Alga 0,3%	<i>Scaffold</i> Hidrogel Alga 0,8%
Selulosa	10	10	10	10	10
<i>C. vulgaris</i>	0	0	0,05	0,3	0,8
<i>Povidon iodine</i>	0	10	0	0	0
Asam fumarat	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Akuades	89,50	79,50	89,45	89,20	88,70

Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri hidrogel diuji terhadap *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) menggunakan metode difusi agar. Cakram hidrogel steril berdiameter 6,35 mm ditempatkan pada media agar yang telah diinokulasi bakteri uji. Selanjutnya, media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Agarwal *et al.*, 2022). Diameter zona hambat di sekitar sampel diukur menggunakan jangka sorong. Efektivitas antibakteri dinyatakan dalam ukuran zona hambat rata-rata (cm) dan dibandingkan dengan kontrol positif (povidon-iodin 10%) serta kontrol negatif (hidrogel tanpa biomassa).

Uji Biodegradabilitas dengan Metode *Soil Burial Test*

Kemampuan biodegradasi *scaffold* dievaluasi melalui metode *soil burial test*. Sampel hidrogel yang telah ditimbang sebelumnya dikubur dalam wadah berisi tanah yang dicampur larutan *Effective Microorganism 4* (EM4) sebagai simulasi aktivitas mikroba alami (Manasikana *et al.*, 2024). Sampel diambil setiap dua hari selama 30 hari untuk ditimbang kembali sehingga dapat diketahui penyusutan massa sampel.

Uji Viabilitas Sel NIH-3T3 secara *In Vitro*

Sampel diekstraksi melalui inkubasi dalam media kultur selama 48 jam pada 37°C dengan 5% CO₂. Uji sitotoksitas dilakukan pada sel fibroblas mencit NIH-3T3 yang dikultur dalam media DMEM mengandung 10% PBS dan antibiotik (Agarwal *et al.*, 2022). Sel ditanam pada 96-well plate dengan kepadatan 1×10^4

sel/well dan diinkubasi selama 24 jam, kemudian diperlakukan dengan ekstrak sampel dan DMSO selama 24 jam. Selanjutnya, ditambahkan larutan MTT (0,5 mg/mL) dan diinkubasi selama 4 jam pada 37°C. Medium dibuang dan kristal formazan yang terbentuk dilarutkan dalam 100 µL DMSO. Absorbansi diukur pada 570 nm menggunakan ELISA reader. Viabilitas sel dihitung relatif terhadap kontrol, dengan nilai ideal 80–90%. Pengujian dilakukan dengan tiga kali replikasi.

Pemeliharaan Hewan Uji Mencit

Hewan uji yaitu mencit (*Mus musculus*) yang digunakan adalah galur BALB/c dengan umur 40-60 hari, jenis kelamin jantan, massa tubuh 20-30 g, diaklimatisasi selama 7 hari, dan dalam kondisi sehat sebelum diinduksi. Kriteria kandang yang digunakan adalah kotak berbahan plastik dengan ukuran $37 \times 28 \times 11$ cm³ dengan dilapisi sekam di bagian dasar kotak dan kawat penutup di bagian atas kotak. Air minum selalu tersedia setiap saat, namun pakan Rat-Bio hanya tersedia saat mencit tidak dipuaskan. Dalam penelitian ini, digunakan 25 mencit yang dibagi secara rata ke dalam 5 kelompok perlakuan, yaitu SH(-), SH(+), SHA 0,05%, SHA 0,3%, dan SHA 0,8% sehingga didapatkan lima kali ulangan. Streptozotocin (STZ) dilarutkan dalam *citrate buffer* 50 mM dan diinduksikan ke mencit yang telah dipuaskan secara i.p. dengan dosis 150 mg/kg berat badan (*single dose*) (Talbot *et al.*, 2024). Kadar gula darah pasca induksi dimonitor selama 7 hari.

Uji Penyembuhan Luka pada Hewan Uji Mencit secara *In Vivo*

Sebelum pelaksanaan uji *in vivo*, *Ethical Clearance* dengan nomor 95/EC-FKH/int./2025 telah diperoleh sebagai bentuk perizinan resmi untuk penggunaan hewan uji sesuai dengan prinsip etika penelitian. Efektivitas hidrogel terhadap penyembuhan luka diuji menggunakan mencit galur BALB/c yang diinduksi diabetes dengan Streptozotocin (STZ). Setelah kadar glukosa darah mencapai >200 mg/dL pada hari ke-7, mencit BALB/c kemudian dicukur punggungnya dan dianestesi dengan 100 mg/mL ketamin dan 20 mg/mL xylazin secara i.p. dalam dosis 0,01 ml/g berat badan (Schuetze *et al.*, 2019). Area punggung mencit didesinfeksi dengan alkohol 70%, kemudian dibuat luka insisi berdiameter 7 mm hingga mencapai lapisan dermis di area interskapular sebagai representasi dari ulkus kaki diabetik *grade 2*. Setelahnya sediaan uji diaplikasikan dengan metode oles tipis setiap hari sebanyak satu kali selama 14 hari. Tingkatan penyembuhan diamati berdasarkan 4 *stages of wound healing*, yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan *remodeling*. Data yang didapatkan selama pengujian adalah diameter luas penutupan luka (Agarwal *et al.*, 2022). Keberhasilan uji ditunjukkan oleh luka yang telah mencapai tahapan *remodeling* dalam 14 hari.

Uji Histologi

Uji histologi dilakukan pada kulit luka yang diambil di hari ke-14 setelah perlakuan luka untuk mengevaluasi percepatan penyembuhan luka menggunakan pewarna HE. Mencit yang telah dieuthanasia dengan dislokasi leher kemudian diambil jaringan

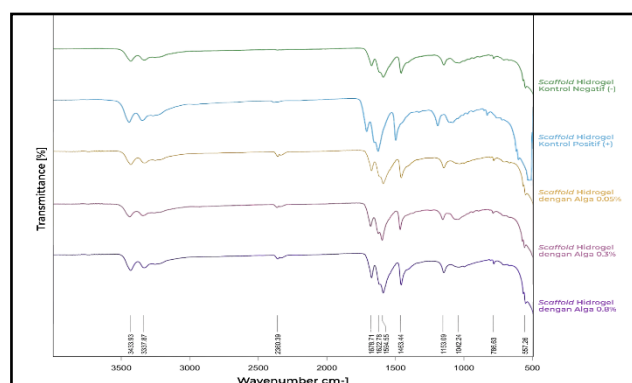
lukanya dan dimasukkan ke dalam *neutral buffered formalin* untuk fiksasi, dilanjutkan dengan *washing*, dehidrasi, dan *clearing*. Jaringan selanjutnya diinfiltrasi sebelum dilakukan *embedding* di dalam parafin. Blok parafin yang telah padat dirapikan (*trimming*) dan dipasang pada *holder* kayu sebelum dipotong (*sectioning*) dengan mikrotom putar dan diafiksing pada gelas benda. Preparat yang didapatkan selanjutnya diwarnai (*staining*) dengan HE dan diakhiri dengan *mounting*. Analisis semi-kuantitatif dilakukan dengan pemberian *scoring* tiga tingkatan pada parameter secara relatif terhadap hasil uji. Cakupan parameter yang diamati adalah penurunan eksudat, infiltrasi *polymorphonuclear leucocytes* (PMN), kolagen, jaringan granulasi, serta meningkatnya re-epitelisasi dan maturasi angiogenesis (Agarwal *et al.*, 2022).

Analisis Statistik

Seluruh data hasil penelitian dinyatakan dalam bentuk rerata $\pm$ standar deviasi (SD). Analisis statistik dilakukan menggunakan analisis varians satu arah (*One-Way ANOVA*) untuk mengetahui perbedaan signifikan antarperlakuan. Apabila terdapat perbedaan yang bermakna, dilakukan uji lanjut *Post Hoc Tukey HSD* untuk mengetahui kelompok yang berbeda secara signifikan. Seluruh analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak IBM SPSS Statistics versi 26,0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA), dengan taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$).

Hasil dan Pembahasan

Karakterisasi Kimia dengan FTIR



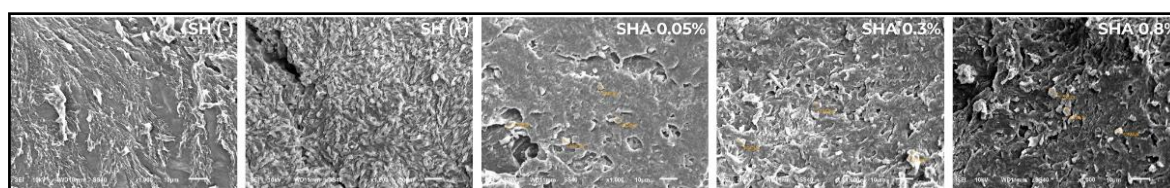
Gambar 1. Visualisasi hasil FTIR sampel *scaffold* hidrogel

Spektrum FTIR seluruh *scaffold* hidrogel menunjukkan pita lebar pada 3330–3440 cm^{-1} yang menandakan gugus –OH dan –NH serta ikatan hidrogen kuat dalam jaringan polimer. Puncak pada $\sim 1676 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan gugus karbonil (C=O) dari asam karboksilat bebas, sedangkan pita 1590–1620 cm^{-1} mengindikasikan gugus karboksilat (COO⁻) yang berinteraksi dengan domain basa (–N<) dari DMAPMA (N-[3-(dimethylamino)propyl]methacrylamide) membentuk kompleks polielektrolit (Agarwal *et al.*, 2022). Pita pada $\sim 1150 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan regangan C–N–C yang khas dari struktur DMAPMA serta mengindikasikan keberadaan ikatan glikosidik dalam matriks hidrogel (Zhuang *et al.*, 2020). Kesamaan pola spektrum ini menunjukkan keberhasilan pembentukan *scaffold* hidrogel pada seluruh formulasi.

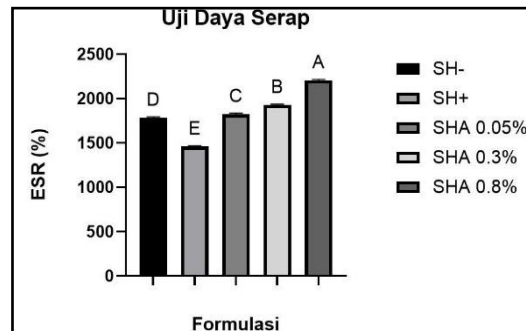
Perbedaan spektrum mulai terlihat seiring meningkatnya konsentrasi biomassa *C. vulgaris*. Intensitas pita pada daerah 1000–1100 cm^{-1} meningkat secara bertahap, yang mengindikasikan kontribusi gugus C–O–C, P–O–P, dan C–O–P dari komponen polisakarida biomassa alga (Agarwal *et al.*, 2022). Selain itu, pada *scaffold* dengan konsentrasi biomassa 0,8% terlihat pita di sekitar $\sim 1622 \text{ cm}^{-1}$ yang lebih jelas, disertai sedikit pergeseran pita –OH/–NH. Pergeseran pita tersebut menunjukkan adanya interaksi kimia yang lebih kuat dan kompleksasi ionik antara biomassa alga dan matriks hidrogel. Hasil ini sejalan dengan temuan Agarwal *et al.* (2022) yang melaporkan bahwa hidrogel yang diteliti menunjukkan pola spektrum FTIR serupa. Hal ini membuktikan integrasi bertahap komponen alami dalam sistem hidrogel seiring meningkatnya konsentrasi biomassa alga *C. vulgaris*.

Identifikasi Struktur Pori dan Morfologi Permukaan dengan SEM

Hasil SEM menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dari masing-masing perlakuan. *Scaffold* hidrogel negatif yang tidak mengandung senyawa aktif tambahan tampak memiliki tekstur yang kasar dan tidak beraturan, disertai dengan struktur fibrillar yang menunjukkan serat dari selulosa eceng gondok dan pori yang berukuran mikro yang ditandai oleh ruang interstisial pada struktur relief. Pada *scaffold* hidrogel positif yang diberi penambahan povidon iodine 10%, ditunjukkan material yang lebih padat dengan permukaan yang tampak kasar. Struktur kristalin yang tersusun rapat dan cenderung terarah menandakan adanya pengaruh iodine sebagai oksidan yang mampu menginisiasi reaksi *crosslinking* (Tashiro dan Gakhutishvili, 2019). Variasi konsentrasi biomassa *Chlorella vulgaris* 0,05%, 0,3%, dan 0,8% dipilih untuk mengevaluasi pengaruh peningkatan kandungan biomassa alga terhadap karakteristik dan aktivitas biologis dari *scaffold* hidrogel. Konsentrasi 0,05% dan 0,3% mengacu pada penelitian Agarwal *et al.* (2022) yang melaporkan keberhasilan formulasi hidrogel berbasis biomassa *Chlorella sorokiniana* pada konsentrasi tersebut untuk penyembuhan luka. Sementara itu, konsentrasi 0,8% dipilih untuk mengevaluasi efek peningkatan *loading* biomassa alga terhadap karakteristik dan aktivitas biologis *scaffold* hidrogel. *Scaffold* hidrogel dengan biomassa alga 0,05% menunjukkan permukaan yang tampak halus dan seragam dengan pori-pori makro yang bermunculan, serta adanya tonjolan yang menunjukkan diameter dari biomassa sel *C. vulgaris*. Seiring dengan peningkatan kadar biomassa alga di angka 0,3% dan 0,8%, terbentuk pori-pori yang semakin banyak dengan permukaan yang tampak menunjukkan gumpalan (*crumpled*), yang menandakan kompatibilitas yang baik antara *C. vulgaris* dengan selulosa melalui interaksi ikatan hidrogen yang kuat (Ciempiel *et al.*, 2022).



Gambar 2. Visualisasi hasil *scanning electron microscopy* (SEM) perbesaran 1000x dan skala 10 μm



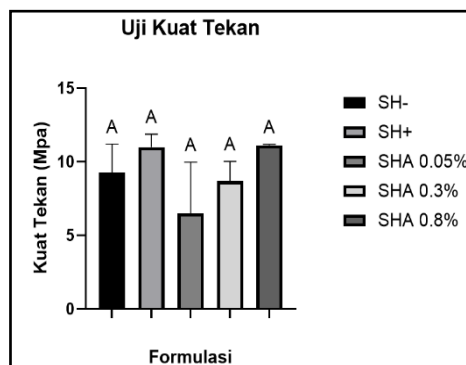
Gambar 3. Nilai *Swelling Ratio* (SR) *scaffold* hidrogel berbasis selulosa *Eichhornia* sp. dengan variasi biomassa *C. vulgaris*. Huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan antarperlakuan berdasarkan uji ANOVA dan Tukey ($p < 0,05$)

Uji Daya Serap *Scaffold* Hidrogel

Hasil uji *swelling ratio* (SR) pada Gambar 3. ($n=3$) menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi biomassa *C. vulgaris* secara signifikan meningkatkan daya serap *scaffold* hidrogel. Formulasi SHA 0,8% memiliki nilai SR tertinggi, diikuti SHA 0,3%, dan SHA 0,05%, sedangkan SH- dan SH+ menunjukkan nilai terendah. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan biomassa *C. vulgaris* dapat meningkatkan kemampuan hidrogel dalam menyerap cairan. Peningkatan SR disebabkan oleh keberadaan gugus hidrofilik seperti karboksil dan hidroksil dalam biomassa *C. vulgaris*, yang memperkuat ikatan hidrogen antara air dan jaringan polimer serta meningkatkan porositas matriks (Ciempiel et al., 2022). Kondisi ini sesuai dengan hasil penelitian oleh Chen et al. (2023) bahwa bahan alami hidrofilik dapat meningkatkan kemampuan pembengkakan hidrogel melalui peningkatan hidrofilitas dan konektivitas pori. Sebaliknya, nilai SR yang rendah pada formulasi SH+ kemungkinan disebabkan oleh

adanya povidone-iodine yang meningkatkan kerapatan jaringan hidrogel melalui interaksi ikatan hidrogen dengan rantai polimer. Peningkatan densitas jaringan ini menyebabkan ukuran pori dan volume bebas matriks berkurang sehingga difusi air ke dalam hidrogel terhambat dan kapasitas pengembangan (*swelling*) menurun (Emam dan Mohamed, 2021).

Nilai SR yang tinggi pada SHA 0,8% menunjukkan kemampuan hidrogel mempertahankan kelembapan dan menyerap eksudat luka secara optimal, menciptakan lingkungan lembap yang mendukung regenerasi jaringan (Lopez-Gutierrez et al., 2023). Namun, daya serap berlebih tetap perlu diimbangi dengan kekuatan mekanik yang memadai agar *scaffold* tidak mudah rusak. Secara keseluruhan, hasil ini membuktikan bahwa kombinasi selulosa eceng gondok dan biomassa *C. vulgaris* menghasilkan hidrogel yang tidak hanya memiliki daya serap tinggi tetapi juga berpotensi sebagai biomaterial ramah lingkungan untuk terapi luka diabetikum (Yuan et al., 2023).



Gambar 4. Nilai kekuatan tekan (*compressive strength*) *scaffold* hidrogel berbasis selulosa *Eichhornia* sp. dengan variasi konsentrasi biomassa *C. vulgaris*. Huruf yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antarperlakuan berdasarkan uji ANOVA dan Tukey ($p > 0,05$)

Uji Daya Kuat Tekan dengan *Universal Testing Machine* (UTM)

Hasil uji kekuatan tekan pada Gambar 4 menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antarperlakuan ($p > 0,05$), dengan nilai rata-rata berkisar antara 9-12 MPa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi biomassa *Chlorella vulgaris* memengaruhi peningkatan kekuatan tekan *scaffold* hidrogel namun tidak signifikan. Menurut Aquino *et al.* (2026), semakin tinggi konsentrasi biomassa alga maka semakin banyak biomolekul yang berpartisipasi dalam pembentukan jaringan sehingga *crosslink* meningkat dan stabilitas serta kekuatan mekanik juga meningkat. Kekuatan tekan yang tidak berbeda signifikan ini menunjukkan bahwa struktur ikatan silang yang dibentuk oleh asam fumarat tetap stabil, sehingga jaringan polimer mempertahankan integritasnya dengan atau tanpa biomassa *C. vulgaris*. Menurut Yang *et al.* (2022), kekuatan mekanik hidrogel terutama ditentukan oleh densitas ikatan silang dimana selagi jaringan telah mencapai kestabilan optimum, penambahan *filler* bioaktif tidak menyebabkan perubahan berarti. Hasil ini juga sejalan dengan Yuan *et al.* (2023), yang melaporkan bahwa biomassa *Chlorella* sp. dapat terdispersi merata tanpa menurunkan kekuatan polimer.

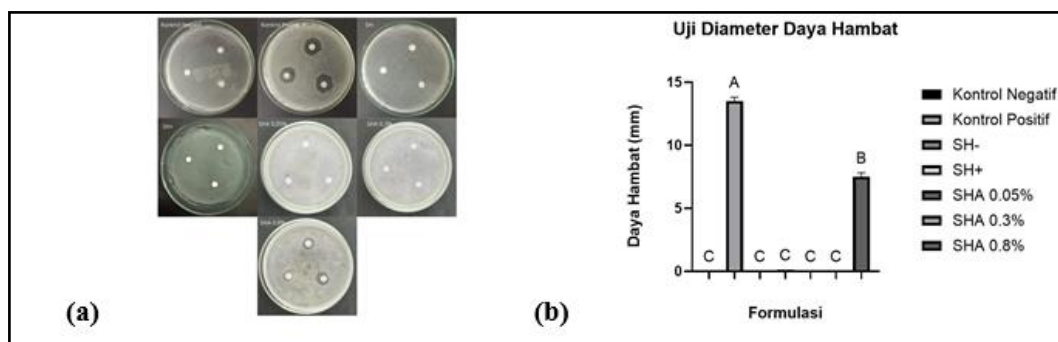
Hidrogel dengan nilai kuat tekan 10 MPa menunjukkan karakteristik yang sesuai untuk dijadikan sebagai penutup luka dan cukup kuat untuk menjaga bentuknya tetap utuh, tetapi masih dapat mengikuti kontur kulit (Hickey dan Pelling, 2019). Dengan demikian, SH positif dan SHA 0,8% menunjukkan keseimbangan optimal antara stabilitas mekanik dan daya serap, menjadikannya kandidat potensial untuk aplikasi penyembuhan luka diabetikum.

Uji Aktivitas Antibakteri (Diameter Daya Hambat)

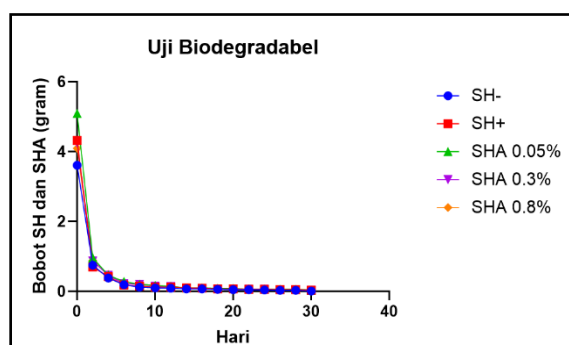
Hasil uji antibakteri pada Gambar 5(a) dan 5(b) menunjukkan bahwa hanya kontrol

positif dan SHA 0,8% yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.aureus*, dengan diameter daya hambat berturut-turut sebesar $13,5 \pm 0,21$ mm dan $7,5 \pm 0,3$ mm. Fenomena tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh He *et al.* (2022), yang melaporkan bahwa hidrogel hibrida berbasis ekstrak *C. vulgaris* dan nanopartikel emas menunjukkan zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus*. Senyawa-senyawa seperti karotenoid, fenol, dan asam lemak tak jenuh pada *C. vulgaris* diketahui mampu mengganggu integritas membran sel bakteri dan menghambat sintesis protein mikroba, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Hasil penelitian ini mendukung bahwa biomassa *C. vulgaris* dapat berfungsi sebagai agen antibakteri alami dengan efektivitas yang meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi. Meskipun aktivitas antibakteri pada formulasi SHA 0,8% belum sekuat kontrol positif, hasil ini menunjukkan potensi dari biomassa *C. vulgaris* sebagai komponen bioaktif dalam pengembangan biomaterial antimikroba ramah lingkungan. Nilai zona hambat yang dihasilkan menandakan adanya kemampuan penghambatan alami tanpa perlu penambahan antibiotik sintetis. Namun demikian, peningkatan efektivitas antibakteri dapat dioptimalkan melalui modifikasi formulasi, misalnya dengan kombinasi bahan antibakteri alami lain seperti kitosan atau perak nanopartikel sebagaimana disarankan oleh He *et al.* (2022). Secara keseluruhan, hasil ini mendukung hipotesis bahwa penambahan biomassa *C. vulgaris* mampu meningkatkan aktivitas antibakteri *scaffold* hidrogel berbasis selulosa eceng gondok. Kombinasi kedua bahan ini berpotensi menghasilkan biomaterial multifungsi yang tidak hanya bersifat biokompatibel dan biodegradabel, tetapi juga efektif dalam mencegah infeksi pada luka kronis seperti ulkus diabetikum.



Gambar 5. Hasil uji aktivitas antibakteri. (a) Zona hambat uji antibakteri. (b) Nilai diameter daya hambat antibakteri *scaffold* hidrogel berbasis selulosa *Eichhornia* sp. dengan variasi konsentrasi biomassa *C. vulgaris*. Huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan antarperlakuan berdasarkan uji ANOVA dan Tukey ($p < 0,05$)



Gambar 6. Grafik penurunan bobot pada uji biodegradabilitas

Uji Sifat Biodegradabel *Scaffold* Hidrogel

Seluruh *scaffold* hidrogel berhasil terurai secara bertahap dan mencapai bobot konstan dalam 30 hari. Laju biodegradabilitas *scaffold* hidrogel pada seluruh kelompok perlakuan tidak berbeda signifikan terhadap SH(-) ($p > 0,05$). Penambahan alga *C. vulgaris* tidak memperlambat laju degradasi sehingga sifat biodegradabel tetap terjaga. Oleh karena itu, formulasi *scaffold* yang dibuat memiliki profil degradasi yang stabil dan tetap menunjukkan penguraian yang mudah dengan penambahan *C. vulgaris*.

Hasil degradabilitas *scaffold* hidrogel dan *scaffold* hidrogel alga tersebut sejalan dengan penelitian Shi et al. (2018) yaitu penambahan mikroalga tidak memperlambat laju degradabilitas dari *scaffold*. Kandungan senyawa bioaktif mikroalga *C. vulgaris* tidak mengubah struktur ikatan polimer utama pada *scaffold* secara signifikan. Selain itu, meskipun *C. vulgaris* memiliki aktivitas antibakteri, namun penambahan biomasanya pada *scaffold* justru dapat meningkatkan hidrofilisitas, porositas, dan penyerapan air. Peningkatan tersebut dapat mempercepat difusi air ke dalam matriks dan memicu degradasi.

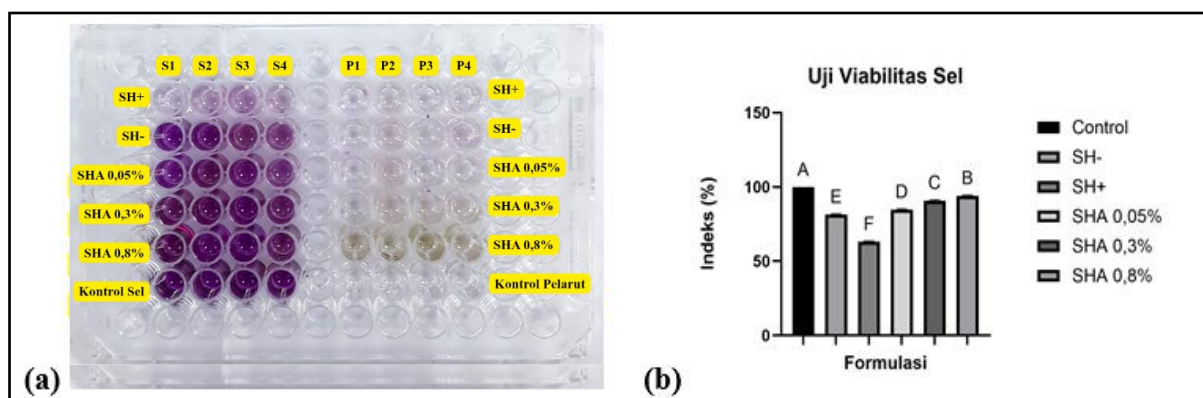
Uji Viabilitas Sel NIH-3T3 secara *In Vitro*

Uji viabilitas sel dilakukan menggunakan metode MTT assay untuk mengevaluasi sitotoksitas dan kompatibilitas seluler dari *scaffold* hidrogel berbasis *Eichhornia* sp. dan *C. vulgaris*. Hasil pengujian menunjukkan nilai rata-rata viabilitas sel sebesar 100,00%; 63,02%; 81,37%; 84,68%; 90,69%; dan 93,90% berturut-turut untuk kontrol sel, *scaffold* hidrogel kontrol negatif, *scaffold* hidrogel kontrol positif, *scaffold* hidrogel alga 0,05%, *scaffold* hidrogel alga 0,3%, *scaffold* hidrogel alga 0,8%. Formulasi dengan konsentrasi *C. vulgaris* 0,8% menunjukkan hasil terbaik dengan viabilitas sel yang mendekati 100%, menandakan tingkat biokompatibilitas yang paling tinggi. Berdasarkan standar ISO 10993-5:2009, nilai viabilitas di atas 80% mengindikasikan bahwa material tidak bersifat sitotoksik. Didapatkan bahwa peningkatan konsentrasi *C. vulgaris* berasosiasi dengan meningkatnya viabilitas sel dan seluruh formulasi hidrogel menunjukkan tidak bersifat sitotoksik, kecuali untuk *scaffold* hidrogel kontrol positif. Hal ini diduga disebabkan oleh adanya komponen povidone-iodine 10% yang mengalami ionisasi dan

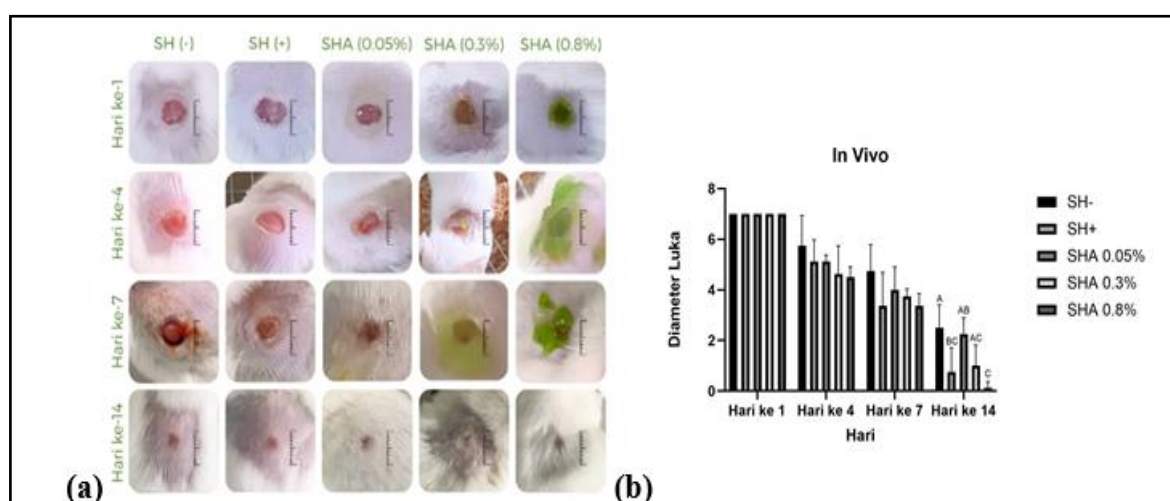
melepaskan ion iodine aktif (I_2 dan I^-). Ion tersebut dapat menembus membran sel dan bereaksi dengan protein sitoplasma serta fosfolipid membran, sehingga menyebabkan denaturasi protein, disfungsi enzim, dan kerusakan integritas membran sel yang mengarah pada kematian sel (Bigliardi *et al.*, 2017).

Dari hasil analisis data, diketahui pula bahwa seluruh perlakuan menunjukkan perbedaan yang signifikan satu sama lain ($p < 0,05$). Temuan ini mengindikasikan bahwa

variasi konsentrasi biomassa *C. vulgaris* dalam formulasi *scaffold* hidrogel memberikan pengaruh nyata terhadap tingkat viabilitas sel NIH-3T3. Perubahan komposisi biomaterial terbukti berkontribusi terhadap perbedaan respons seluler yang diamati. Selain itu, hasil ini juga mendukung potensi penggunaan hidrogel berbasis alga *C. vulgaris* sebagai kandidat material biomimetik yang aman dan biokompatibel untuk aplikasi penyembuhan luka kulit.



Gambar 7. Hasil uji viabilitas sel NIH-3T3. (a) Visualisasi sel sebelum dilakukan pembacaan viabilitas menggunakan ELISA reader. Bagian kiri menunjukkan hasil viabilitas sel dengan urutan dari atas ke bawah: *scaffold* hidrogel kontrol positif, *scaffold* hidrogel kontrol negatif, *scaffold* hidrogel alga 0,05%, *scaffold* hidrogel alga 0,3%, *scaffold* hidrogel alga 0,8%, dan kontrol sel. Bagian kanan merupakan faktor pengoreksi pelarut berupa DMSO dari masing-masing perlakuan dan kontrol pelarut. (b) Nilai viabilitas sel NIH-3T3 terhadap *scaffold* hidrogel berbasis selulosa *Eichhornia* sp. dengan variasi konsentrasi biomassa *C. vulgaris*. Huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan antarperlakuan berdasarkan uji ANOVA dan Tukey ($p < 0,05$)



Gambar 8. Hasil Uji Penutupan Luka. (a) Dokumentasi visual proses penutupan luka pada mencit model ulkus diabetikum setelah aplikasi *scaffold* hidrogel dengan berbagai konsentrasi biomassa *C. vulgaris* (SHA 0,05%; 0,3%; dan 0,8%) dibandingkan dengan SH- (kontrol negatif) dan SH+ (kontrol positif) pada hari ke-1, 4, 7, dan 14. (b) Grafik perubahan diameter luka mencit selama 14 hari pengamatan setelah aplikasi *scaffold* hidrogel dengan variasi biomassa *C. vulgaris*. Huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan antarperlakuan berdasarkan uji ANOVA dan Tukey ($p < 0,05$)

Uji Penyembuhan Luka pada Mencit secara *In Vivo*

Kelompok perlakuan SHA 0,8% mengalami penyusutan luka lebih cepat secara signifikan terhadap kelompok SH- ($p < 0,05$), ditunjukkan pada Gambar 9(a) yang menampilkan proses penutupan luka pada hari ke-1, 4, 7, dan 14. Diameter luka mencit yang diukur selama 14 hari menunjukkan bahwa kelompok SHA 0,8% memiliki laju penutupan luka paling tinggi (Gambar 9b). Hasil ini menegaskan bahwa formulasi SHA dengan konsentrasi 0,8% memberikan efek optimal dalam mempercepat proses penyembuhan luka secara *in vivo*.

Percepatan penyembuhan luka pada kelompok SHA 0,8% diduga disebabkan oleh kombinasi antara aktivitas biopolimer hidrogel sebagai pemberi kelembapan dan peran bioaktif dari *C. vulgaris* yang mengandung protein, polisakarida, serta antioksidan alami seperti klorofil dan karotenoid (Ilieva et al., 2024). Komponen-komponen ini dapat menstimulasi proliferasi fibroblas dan epitelisasi, serta mempercepat deposisi kolagen pada jaringan luka (Cui et al., 2025). Sementara itu, pada kelompok kontrol positif, terbentuk lapisan *scab* tipis di permukaan luka yang diduga berasal dari efek penggunaan povidon-iodin 10%. Povidon-iodin diketahui dapat menimbulkan efek penghambatan migrasi sel epitel dan memperlambat proses regenerasi jaringan (Ortega-LLamas et al., 2022). Dengan demikian, hasil ini menunjukkan bahwa formula SHA 0,8% mampu menciptakan kondisi penyembuhan yang lebih ideal melalui kelembapan terkontrol dan aktivitas regeneratif yang lebih baik dibandingkan kontrol positif maupun negatif.

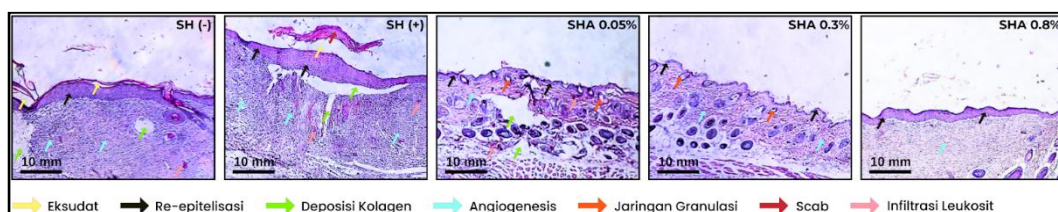
Uji Histologi Jaringan Kulit Luka Mencit dengan Pewarnaan HE

Hasil uji histologi diinterpretasikan dengan acuan 4 *stages of wound healing*, antara lain yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan *remodeling*. Parameter yang digunakan yaitu menurunnya jumlah eksudat, infiltrasi *polymorphonuclear leukocytes* (PMN), kolagen, jaringan granulasi, serta meningkatnya re-epitelisasi dan maturasi angiogenesis (Agarwal et al., 2022).

Pada preparat hematoksilin-eosin (HE), eksudat dikenali sebagai akumulasi eosinofilik pada permukaan luka yang berasal dari cairan inflamasi, fibrin, dan debris sel. Infiltrasi leukosit atau PMN ditandai oleh banyaknya sel leukosit yang tersebar pada area inflamasi. Deposisi kolagen diidentifikasi sebagai area serabut yang tampak lebih pucat dengan susunan yang semakin rapat dan teratur pada dermis, dengan peningkatan kepadatan dan susunan serabut yang semakin teratur seiring berlangsungnya proses penyembuhan (Kumar et al., 2021). Jaringan granulasi ditandai oleh proliferasi fibroblas, pembentukan kapiler baru, serta matriks ekstraseluler yang masih longgar. Re-epitelisasi diamati dari terbentuknya lapisan epitel baru yang menutupi permukaan luka, sedangkan angiogenesis dikenali dari munculnya pembuluh darah baru berukuran kecil yang dilapisi oleh sel endotel (Mescher, 2021).

Hasil uji histologi diinterpretasikan dengan acuan 4 *stages of wound healing*, antara lain yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan *remodeling*. Parameter yang digunakan yaitu menurunnya jumlah eksudat, infiltrasi *polymorphonuclear leukocytes* (PMN), kolagen, jaringan granulasi, serta meningkatnya re-epitelisasi dan maturasi angiogenesis (Agarwal et al., 2022).

Pada preparat hematoksilin-eosin (HE), eksudat dikenali sebagai akumulasi eosinofilik pada permukaan luka yang berasal dari cairan inflamasi, fibrin, dan debris sel. Infiltrasi leukosit atau PMN ditandai oleh banyaknya sel leukosit yang tersebar pada area inflamasi. Deposisi kolagen diidentifikasi sebagai area serabut yang tampak lebih pucat dengan susunan yang semakin rapat dan teratur pada dermis, dengan peningkatan kepadatan dan susunan serabut yang semakin teratur seiring berlangsungnya proses penyembuhan (Kumar et al., 2021). Jaringan granulasi ditandai oleh proliferasi fibroblas, pembentukan kapiler baru, serta matriks ekstraseluler yang masih longgar. Re-epitelisasi diamati dari terbentuknya lapisan epitel baru yang menutupi permukaan luka, sedangkan angiogenesis dikenali dari munculnya pembuluh darah baru berukuran kecil yang dilapisi oleh sel endotel (Mescher, 2021).



Gambar 9. Gambaran histologi jaringan kulit pada luka mencit dengan pewarnaan HE (Perbesaran 10×)

Kelompok kontrol negatif masih menunjukkan deposisi kolagen yang minimal serta keberadaan eksudat dan infiltrasi sel radang yang menandakan proses masih berada pada fase inflamasi. Sementara itu, kontrol positif dengan povidon-iodin 10% memperlihatkan peningkatan angiogenesis dan deposisi kolagen, tetapi masih disertai inflamasi tinggi dan pembentukan scab akibat efek topikal dari povidon-iodin 10%. Meskipun kelompok kontrol negatif dan kontrol positif menunjukkan regenerasi atau ketebalan epidermis yang lebih tinggi dibandingkan kelompok lainnya, parameter tersebut bukan satu-satunya indikator keberhasilan penyembuhan luka. Evaluasi histopatologi perlu mempertimbangkan keseluruhan parameter, seperti infiltrasi sel inflamasi, pembentukan dan maturasi jaringan granulasi, deposisi serta organisasi kolagen, angiogenesis, dan re-epitelisasi, kemudian diinterpretasikan bersama hasil pengamatan makroskopis (Wilkinson & Hardman, 2020).

Kelompok perlakuan dengan variasi konsentrasi *C. vulgaris* menunjukkan perbedaan yang nyata pada proses penyembuhan luka jaringan kulit mencit. Pada konsentrasi SHA 0,05% mulai tampak adanya aktivitas proliferasi dengan granulasi jaringan baru, meskipun lapisan epitel masih tipis. SHA 0,3% menunjukkan epitel yang lebih tebal dan susunan kolagen yang lebih rapat, menandakan fase proliferasi yang telah berkembang. Sementara itu, SHA 0,8% menunjukkan hasil paling optimal berupa pembentukan epitel tebal, deposisi kolagen yang padat dan teratur, serta penurunan jumlah sel inflamasi, menandakan jaringan telah memasuki fase *remodeling*. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Zhang *et al.* (2026) yang menunjukkan bahwa pemberian *C. vulgaris* mampu mempercepat proses penyembuhan luka melalui peningkatan regenerasi jaringan, pembentukan matriks ekstraseluler, serta modulasi respons inflamasi. Efek tersebut dikaitkan dengan kandungan senyawa bioaktif,

seperti polisakarida, protein, klorofil, dan senyawa antioksidan, yang berperan dalam mendukung proliferasi fibroblas, sintesis kolagen, dan proses re-epitelisasi sehingga mempercepat perbaikan jaringan luka.

Simpulan dan Saran

Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa *Scaffold Hidrogel Alga* (SHA) 0,8% memberikan hasil karakteristik terbaik secara keseluruhan dengan hasil karakterisasi kimia melalui FTIR membuktikan adanya gugus -OH dan -NH yang menandakan ikatan hidrogen yang kuat, hasil identifikasi morfologi melalui SEM yang menunjukkan adanya makroporositas dengan persebaran sel *C. vulgaris*, daya serap tertinggi, daya kuat tekan yang sesuai dengan standar, serta diameter daya hambat sebesar 0,72 cm pada uji aktivitas antibakteri. Hasil penyembuhan luka secara *in vivo* dari SHA 0,8% memberikan rata-rata diameter luka terendah pada hari ke-14 dengan uji histologi yang menunjukkan penyembuhan luka telah mencapai tahap *remodeling*.

Peneliti berharap penelitian ini dapat disempurnakan melalui optimasi formulasi scaffold hidrogel guna meningkatkan aktivitas antibakteri dan regenerasi jaringan, disertai uji biokompatibilitas lanjutan untuk memastikan keamanan aplikasi klinis. Studi mendatang juga diharapkan meneliti stabilitas, umur simpan, serta potensi produksi skala industri berbasis sumber daya hayati ramah lingkungan agar inovasi ini dapat diterapkan secara luas sebagai biomaterial hijau untuk terapi ulkus diabetikum.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Direktorat Pembelajaran dan Kemahasiswaan (Belmawa), Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi, serta Universitas Gadjah Mada

yang telah memberikan dukungan dana untuk penelitian ini melalui Program Kreativitas Mahasiswa tahun 2025. Ucapan terima kasih disampaikan pula kepada Fakultas Biologi UGM, Fakultas Farmasi UGM, Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM; serta semua pihak yang terlibat yang telah memberikan dukungan dan fasilitas selama penelitian berlangsung.

Daftar Pustaka

- Agarwal, A., Kumar, A., Garg, P., Chakraborty, A., Verma, R., Sarwat, M., Gupta, A., Sasmal, P. K., Verma, Y. K., Chowdhury, C., & Mukherjee, M. (2022). Algal Biomass-Loaded Hydrogel Scaffolds as a Biomimetic Platform with Antibacterial and Wound Healing Activities. *ACS Applied Polymer Materials*, 4(8), 5800–5812. <https://doi.org/10.1021/acsapm.2c00722>
- Aquino, L.L., Silva-Pituco, S.C., Hernandez-Sosa, A., Ramakhosa, E.C., Hernandez, R., Colla, E., Santamaria-Echart, A., & Barreiro, M.F. (2026). Zero-waste hydrogel design via integral biomass valorization of protein-rich spirulina microalgae. *Molecules*, 31(4), 591. <https://doi.org/10.3390/molecules31040591>
- Bigliardi, P. L., Alsagoff, S. A. L., El-Kafrawi, H. Y., Pyon, J. K., Wa, C. T. C., & Villa, M. A. (2017). Povidone iodine in wound healing: A review of current concepts and practices. In *International Journal of Surgery* (Vol. 44, pp. 260–268). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2017.06.073>
- Chen, G., Wang, F., Zhang, X., Shang, Y., & Zhao, Y. (2023). *Living microecological hydrogels for wound healing*. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adg3478>
- Ciempiel, W., Czemińska, M., Szymańska-Chargot, M., Zdunek, A., Wiącek, D., Jarosz-Wilkolazka, A., & Krzemińska, I. (2022). Soluble Extracellular Polymeric Substances Produced by *Parachlorella kessleri* and *Chlorella vulgaris*: Biochemical Characterization and Assessment of Their Cadmium and Lead Sorption Abilities. *Molecules*, 27(21). <https://doi.org/10.3390/molecules27217153>
- Cui, B., Ren, C., Zhang, R., Ren, Y., Liu, J., Gou, Y., Zhao, T., Jiang, X., Cui, H., Wang, X., & Wang, L. (2025). Chlorella-encapsulated living hydrogel based on gelatin and carrageenan with oxygen production, hemostatic and antibacterial capacity for promoting wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 308. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.142356>
- Emam, H.E. & Mohamed, A.L. (2021). Controllable release of povidone-iodine from networked pectin@carboxymethyl pullulan hydrogel. *Polymers*, 13(18), 3118. <https://doi.org/10.3390/polym13183118>
- He, R., Zhou, D., Xiao, L., & Li, Y. (2023). Chlorella vulgaris Extract-Decorated Gold Nanoparticle Hybridized Antimicrobial Hydrogel as a Potential Dressing. *Gels*, 9(1). <https://doi.org/10.3390/gels9010011>
- Hickey, R. J., & Pelling, A. E. (2019). Cellulose biomaterials for tissue engineering. In *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* (Vol. 7, Issue MAR). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00045>
- Ilieva, Y., Zaharieva, M. M., Kroumov, A. D., & Najdenski, H. (2024). Antimicrobial and Ecological Potential of Chlorellaceae and Scenedesmaceae with a Focus on Wastewater Treatment and Industry. In *Fermentation* (Vol. 10, Issue 7). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/fermentation10070341>
- International Organization for Standardization. (2009). *ISO 10993-5: Biological Evaluation of Medical Devices - Part 5: Test for In Vitro Cytotoxicity*.
- Jahan, N., Ibne Mahbub, M. S., Lee, B. T., & Bae, S. H. (2023). In Vivo and In Vitro Investigation of a Novel Gelatin/Sodium Polyacrylate Composite Hemostatic Sponge for Topical Bleeding. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(5). <https://doi.org/10.3390/jfb14050265>
- Katherine McDermott, Michael Fang, Andrew J.M. Boulton, Elizabeth Selvin, Caitlin W. Hicks. (2022). Etiology, Epidemiology, and Disparities in the Burden of Diabetic Foot Ulcers. *Diabetes Care* 2 January 2023. 46(1), 209–221. <https://doi.org/10.2337/dci22-0043>

- Kumar, V., Abbas, A. K. and Aster, J. C. (2021). *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease* (10th ed.). Elsevier.
- López-Gutierrez, J., Ramos-Payán, R., Ayala-Ham, A., Romero-Quintana, J. G., Castillo-Ureta, H., Villegas-Mercado, C., Bermúdez, M., Sanchez-Schmitz, G., & Aguilar-Medina, M. (2023). Biofunctionalization of hydrogel-based scaffolds for vascular tissue regeneration. In *Frontiers in Materials* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmats.2023.1168616>
- Manasikana, O.A., Mayasari, A., & Af'idah, N. (2019). Pemanfaatan limbah kulit jagung dan ampas tebu sebagai kertas kemasan ramah lingkungan. *Jurnal Zarah*, 7(2), 79-85. <https://doi.org/10.31629/zarah.v7i2.1457>
- Mescher A.L. (2021). *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas* (16th ed.). McGraw Hill.
- Oktalia, A. W., Retnaningrum, Y. R., & Khotimah, S. (2021). Hubungan antara penyakit arteri perifer dan kadar HbA1c dengan tindakan amputasi ekstremitas pada pasien ulkus kaki diabetik di RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(5), 715–721. <https://jsk.ff.unmul.ac.id/index.php/JSK/article/view/493/489>
- Ortega-Llamas, L., Quiñones-Vico, M. I., García-Valdivia, M., Fernández-González, A., Ubago-Rodríguez, A., Sanabria-De la Torre, R., & Arias-Santiago, S. (2022). Cytotoxicity and Wound Closure Evaluation in Skin Cell Lines after Treatment with Common Antiseptics for Clinical Use. *Cells*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/cells11091395>
- Sari, Y. O., Almasdy, D., & Fatimah, A. (2018). Evaluasi Penggunaan Antibiotik Pada Pasien Ulkus Diabetikum di Instalasi Rawat Inap (IRNA) Penyakit Dalam RSUP Dr. M. Djamil Padang. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 5(2), 102. <https://doi.org/10.25077/jsfk.5.2.102-111.2018>
- Schuetze, S., Manig, A., Ribes, S., & Nau, R. (2019). Aged mice show an increased mortality after anesthesia with a standard dose of ketamine/xylazine. *Laboratory Animal Research*, 35(8), 1-7. <https://doi.org/10.1186/s42826-019-0008-y>
- Shi, B., Zhang, L., Liang, L., & Ban, J. (2018). Biodegradable spirulina extract/polycaprolactone porous scaffolds. *New Journal of Chemistry*, 42(19), 15830–15838. <https://doi.org/10.1039/C8NJ01617H>
- Talbot, S. R., Heider, M., Wirth, M., Jorns, A., & Naujok, O. (2024) Exploring dose–response variability and relative severity assessment in STZ-induced diabetes male NSG mice. *Scientific Reports*, 14(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-67490-z>
- Tanpichai, S., Phoothong, F., & Boonmahitthisud, A. (2022). Superabsorbent cellulose-based hydrogels cross-linked with borax. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12688-2>
- Tashiro, K., & Gakhutishvili, M. (2019). Crystal structure of cellulose-iodine complex. *Polymer*, 171, 140–148. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2019.03.034>
- Uyanga, K. A., & Daoud, W. A. (2021). Green and sustainable carboxymethyl cellulose-chitosan composite hydrogels: Effect of crosslinker on microstructure. *Cellulose*, 28(9), 5493–5512. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-03870-2>
- Wilkinson, H. N., & Hardman, M. J. (2020). Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. *Open Biol*, 10(9). <https://doi.org/10.1098/rsob.200223>
- Wu, H., Yang, P., Li, A., Jin, X., Zhang, Z., & Lv, H. X. (2023). Chlorella sp.-ameliorated undesirable microenvironment promotes diabetic wound healing. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 13(1), 410–424. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.06.012>
- Yuan, S., Zhang, Y., Dai, X., Zou, Y., Huang, M., Yang, X., Chen, H., & Gao, F. (2025). Polyacrylic Acid-Based Chlorella Loading Hydrogel Featuring Antibacterial and Microenvironment Remodeling Properties for Expedited Wound Healing. *Biomacromolecules*. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.5c01694>
- Zhang, H., Liu, D., Lv, Y., Liu, C., Cao, X., Dai, J., Chai, Y., Chen, W. (2026). Nutrient Matrix-Supplying Hydrogel for Chlorella vulgaris Promotes Diabetic Wound Healing. *ACS Biomaterials Science &*

Engineering, 12(2).
<https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.5c01857>

Zhuang, J., Li, M., Pu, Y., Ragauskas, A. J., & Yoo, C. G. (2020). Observation of potential contaminants in processed biomass using fourier transform infrared spectroscopy. *Applied Sciences (Switzerland)*, 10(12).
<https://doi.org/10.3390/app10124345>