

EFEK EKSTRAK DAUN CEREMAI (*PHYLLANTHUS ACIDUS* (L.) SKEELS) TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA MUKOSA TIKUS WISTAR (*RATTUS NORVEGICUS*)

THE EFFECT OF CEREMAI LEAF EXTRACT (*PHYLLANTHUS ACIDUS* (L.) SKEELS) ON WOUND HEALING OF WISTAR RATS (*RATTUS NORVEGICUS*)

Fakhrurrazi, Rachmi Fanani Hakim, Astari Chairunissa

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Syiah Kuala

Corresponding Author: rachmifananihakim@unsyiah.ac.id

Abstrak

Luka merupakan terjadinya gangguan pada struktur normal tubuh. Tubuh akan merespon melalui proses penyembuhan luka. Kerusakan dan regenerasi jaringan memerlukan peran kolagen. Ketika proses penyembuhan jaringan kolagen disintesis dan didepositkan oleh fibroblas. Daun ceremai bermanfaat untuk penyembuhan luka karena mengandung senyawa aktif Terpenoid, Saponin dan flavonoid. Tujuan penelitian untuk menetapkan potensi ekstrak daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) sebagai obat herbal terhadap penyembuhan luka tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). Sepuluh ekor tikus jantan dengan berat 200-300 gram dan usia 8-12 minggu dibagi ke dalam 2 kelompok, kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Luka pada gingiva bagian labial tikus dibuat sepanjang 5 mm dan kedalaman mencapai tulang alveolar. Ekstrak daun ceremai 100% diberikan pada kelompok perlakuan topikal 2 kali sehari selama 7 hari. Aquades diberikan pada kelompok kontrol. Pengamatan histologis (pewarnaan hematoksilin eosin) menunjukkan hasil rerata jumlah fibroblas pada kelompok kontrol $20,4 \pm 1,3$ dan kelompok perlakuan $31,0 \pm 3,3$. Uji T tidak berpasangan menunjukkan nilai signifikansi yakni 0,001 ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna jumlah fibroblas pada penyembuhan luka antara ekstrak daun ceremai dibanding kontrol. Ekstrak daun ceremai konsentrasi 100% mempunyai efek terhadap jumlah fibroblas pada luka gingiva tikus Wistar.

Kata Kunci: Penyembuhan Luka, Ekstrak Daun Ceremai, Fibroblas

Abstract

Injury is a disturbance in the normal structure of the body. The body will respond through the process of wound healing. Tissue damage and regeneration require the role of collagen. When the healing process of collagen tissue is synthesized and deposited by fibroblasts. Ceremai leaves are useful for wound healing because they contain the active compounds Terpenoid, Saponin and flavonoids known. The purpose of this study was to determine the effect of ceremai leaf extract (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) on wound healing of Wistar (*Rattus norvegicus*) wounds. 10 male rats weighing 200-300 grams and aged 8-12 weeks were divided into 2 groups, the treatment group and the control group. The gingival wound in the labial part of the rat was made 5 mm long and the depth reached the alveolar bone. Ceremai leaf extract was given to the topical treatment group 2 times a day for 7 days. Aquades are given in the control group. Histological observations showed the average number of fibroblasts in the control group was 20.4 ± 1.3 and the treatment group was 31.0 ± 3.3 . The unpaired T test showed a significance value of 0.001 ($p < 0.05$), indicating that there was a significant difference in the number of fibroblasts in wound healing between ceremai leaf extract compared to controls. The 100% concentration of ceremai leaf extract had an effect on the number of fibroblasts in the gingival wound of Wistar rats.

Keywords: Wound Healing, Ceremai Leaf Extract, Fibroblast

PENDAHULUAN

Luka diartikan sebagai terganggu dan rusaknya struktur serta fungsi normal dari suatu struktur tubuh.^{1, 2} Luka dapat diklasifikasikan berdasarkan banyak aspek. Berdasarkan struktur yang terlibat luka beragam dimulai dari yang sederhana seperti hilangnya integritas epitel kulit sampai terjadinya kerusakan struktur lain seperti tulang.² Terdapat banyak penyebab terjadinya luka, salah satunya adalah prosedur perawatan gigi dan mulut seperti ekstraksi, insisi, dan lainnya. Saat mengalami luka, usaha untuk penyembuhan luka tubuh akan memberikan respon.³ Proses penyembuhan luka yang kompleks dan dinamis melibatkan beberapa proses koordinasi sel yang terdiri dari pertama hemostasis, kedua proses koagulasi, ketiga inisiasi respon mediator inflamasi akut, regenerasi, migrasi dan proliferasi, serta keempat remodeling untuk pembentukan kolagen sehingga mendapatkan kembali kontinuitas anatomi dan fungsi struktur tersebut.^{1, 2, 4}

Pembentukan kolagen dan sel epitel merupakan proses penyembuhan luka. Kolagen dibutuhkan untuk memperbaiki kerusakan dan mengembalikan (meregenerasi jaringan) struktur dan fungsi struktur anatomi tubuh. Fibroblas merupakan sel jaringan ikat berperan mensintesis dan mendepositkan kolagen untuk penyembuhan jaringan. Fibroblas berperan penting dalam penyembuhan luka karena fibroblas berperan membentuk jaringan ikat yang baru.⁵⁻⁷ Herbal atau ekstrak bahan alami telah banyak dipercaya dan diteliti dapat digunakan sebagai bahan herbal topikal penyembuh luka pada hewan coba.⁵

Salah satu tanaman yang berpotensi adalah daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels). Sebuah tanaman asli India yang secara tradisional digunakan untuk menyembuhkan beberapa penyakit inflamasi.⁸ Menurut penelitian Jagessar (2008) daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) mempunyai daya antimikroba seperti antibakteri dan antijamur.⁹ Agen antibakteri mengurangi kolonisasi dan infeksi bakteri luka, untuk meningkatkan proses penyembuhan. Agen antibakteri memperpendek periode peradangan, untuk mempersingkat waktu penyembuhan. Inflamasi merupakan respon pertama selama masa penyembuhan sebagai mekanisme pertahanan jaringan, durasi yang singkat pada fase inflamasi dapat mempersingkat proses penyembuhan luka.¹⁰

Pratiwi dkk. (2013) melaporkan bahwa setelah uji fitokimia, kandungan ekstrak daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) yaitu senyawa flavonoid, tanin, dan saponin.¹¹ Menurut Afifah dkk. (2013) kandungan simplisia daun ceremai adalah flavonoid, kuinon, polifenol, saponin, dan terpenoid.¹² Triterpenoid dapat memodulasi ekspresi gen pada kultur sel fibroblas.¹³ Senyawa saponin dipercaya membantu proses penyembuhan luka melalui pembentukan kolagen.¹⁴ Flavonoid dapat meningkatkan pembentukan kekuatan dari serat kolagen yang diperlukan dalam penyembuhan luka.⁵ Senyawa saponin, flavonoid, tanin dapat dijadikan obat topikal penyembuh luka karena mempunyai sifat antibakteri dan antijamur sehingga dapat mempercepat penyembuhan luka.¹⁴ Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak daun ceremai sebagai obat topikal penyembuhan luka mukosa oral.

BAHAN DAN METODE

Semua prosedur telah disetujui oleh Badan Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Syiah Kuala untuk Perawatan dan Penggunaan Hewan sebelum penelitian dimulai. Nomor izin etis 011 / KE / FKG / 2020.

Ekstraksi Ekstrak Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels)

Daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) yang dipilih dan dipisahkan dari daun rusak sehingga didapatkan daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) yang baik sebanyak 1 kg.¹⁵ Daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) yang telah dikumpulkan dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan selama 7 hari dengan tidak terkena cahaya matahari langsung.¹⁰ Setelah itu, daun yang mengering dihaluskan menjadi serbuk daun dengan bantuan blender atau grinder dan disimpan di dalam *air-tight container*.^{16, 15} Selanjutnya serbuk daun diletakkan dalam *flat bottomed glass container* dan direndam dengan 1 L metanol. Lalu ditutup dan dibiarkan selama 3 hari disertai sesekali dilakukan pengadukan dan pengocokan. Hasil campurannya kemudian difiltrasi menggunakan *white cotton material* diikuti dengan filtrasi. Filtrat didapat dari penguapan menggunakan *Whatmann filter paper* dan ekstrak daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) didapat dari penguapan dengan *rotary vacuum evaporator*.^{10, 17}

Tahapan Persiapan Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih galur Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan usia 8-12 minggu dan berat 200-300 gr diadaptasikan dengan lingkungan laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala dengan cara dikandangkan secara individual pada suhu ruangan sekitar 25°C, ventilasi yang baik. Tikus diberi makan dengan *standart laboratory pellet* diet dan air secara *ad libitum* selama minimal 5 hari.^{8,16} Tikus putih galur Wistar (*Rattus norvegicus*) dipelihara dalam kandang yang terbuat dari bahan plastik dengan alas sekam serta kawat sebagai penutupnya. Kandang tersebut dibersihkan minimal 2 kali dalam seminggu.¹⁸

Pembuatan Luka Insisi pada Gingiva Bagian Labial Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

Tikus coba dibagi menjadi dua kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan. Daerah yang dibuat perlukaan adalah gingiva bagian labial di bawah kedua gigi anterior mandibula. Pertama, semua tikus dianestesi dengan menggunakan injeksi single intramuskular 1-2 mg/kg xylazine hydrochloride dan 10 mg/kg ketamine hydrochloride.^{5,19} Perlukaan dibuat pada gingiva bagian labial di bawah kedua gigi anterior mandibula menggunakan blade dan scalpel sepanjang 5 mm dan kedalaman mencapai tulang alveolar.^{17, 20}

Aplikasi Ekstrak Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) pada Luka Insisi

Pada kelompok perlakuan diaplikasikan ekstrak daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) secara topikal dengan kapas steril sebanyak 100µl setiap harinya sampai hari ke-7. Diaplikasikan 2 kali sehari selama 1 menit, yaitu pada pagi hari dan sore hari yakni pukul 08.00 dan 16.00 selama 7 hari. Akuades diaplikasikan pada kelompok kontrol.^{19, 20} Setelah selesai diberikan perlakuan, maka semua tikus putih Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan kemudian dieutanasia dengan ether, yakni kapas yang dibasahi dengan ether diletakkan dalam satu wadah yang sesuai dengan besar hewan cobanya.²¹ Kemudian tikus Wistar dimasukkan satu per satu ke dalam wadah tersebut ditunggu hingga mati. Setelah

dilakukan pemotongan jaringan maka tikus Wistar dikuburkan.²²

Pembuatan dan Pengamatan Preparat Histologi

Bagian yang diberi perlakuan dilakukan pemotongan jaringan dan difiksasi dengan cara memasukkan potongan jaringan ke dalam larutan Neutral Buffer Formalin (10%) selama 18-24 jam.⁵⁷ selanjutnya jaringan dipotong dengan ketebalan sekitar 2-3 mm. Perendaman bertingkat, pertama dalam alkohol 70% dilakukan selama 15 menit, selanjutnya alkohol 80% selama 1 jam, dan alkohol 95% selama 2 jam, 96% selama 1 jam dan alkohol 100% selama 3 jam. Perendaman dalam larutan xylol (clearing) dilakukan sebanyak 3 kali pada wadah yang berbeda dengan rentang waktu 1 jam, 2 jam dan 2 jam pada perendaman terakhir. Setelah itu jaringan diinfiltrasi dengan menggunakan paraffin selama 1,5 jam.^{17, 23} Selanjutnya dilakukan penanaman jaringan pada paraffin block dan pemotongan jaringan dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5mikron.²⁴ Kemudian jaringan diletakkan pada *water bath*. Selanjutnya, potongan jaringan dipindahkan ke *object glass* yang sebelumnya telah dioleskan albumingliserin sebagai perekat didiamkan selama 12 jam.^{23, 24} Lalu dimasukkan ke dalam 2 tabung larutan xylol selama 2-3 menit, kemudian 4 tabung alkohol masing-masing selama 3 menit, dan air mengalir sampai bersih. Setelah itu dilakukan pewarnaan preparat dengan menggunakan pewarnaan hematoxylin eosin (HE) dengan 3 tahap yaitu pewarnaan, dehidrasi dan penjernihan. Pewarnaan dilakukan dengan pewarna utama hematoxylin selama 10-15 menit, cuci dengan air mengalir selama 20 menit, celupkan ke dalam acid alcohol, celupkan ke dalam air dan lakukan dengan pewarna pembanding dengan eosin 10-15 menit. Dehidrasi dilakukan dengan menggunakan alkohol 70%, 80%, 96%, dan 100% masing-masing selama 2-3 menit. Penjernihan dilakukan dengan larutan xylol selama 60 menit dan diulangi agar hasil pewarnaan dapat terlihat dengan jelas. Sediaan preparat dikeringkan dan ditetesi dengan perekat permount dan kemudian ditutup dengan *cover glass* dan ditunggu beberapa menit hingga perekatnya mengering.^{17, 23} Preparat dapat diamati dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x dan pengamatan dengan 5 lapangan pandang untuk melihat

jumlah fibroblas yang ada.^{20, 21} Pengamatan dan perhitungan dengan 5 lapangan pandang adalah melakukan perhitungan sebanyak 5 kali pergantian lapangan pandang berbeda yang tampak dalam lensa objektif dengan cara menggeser lensa ke bagian atas, tengah dan bawah preparat. Kemudian hasilnya dijumlahkan dan diambil nilai rata-ratanya untuk mendapatkan jumlah fibroblas setiap preparat.²⁵⁻²⁷

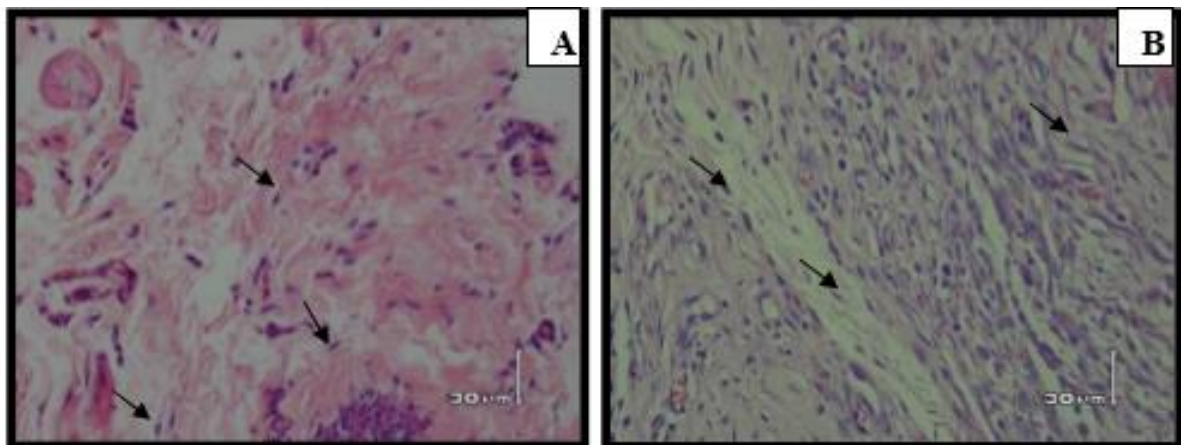
HASIL

Pengamatan dan perhitungan jumlah fibroblas pada preparat dilakukan dengan menggunakan mikroskop Olympus BX 41 dengan 400x pembesaran dan 5 lapangan pandang setiap preparat. Pengamatan ini dilengkapi dengan kamera digital DP-12. Data

hasil perhitungan jumlah fibroblas menunjukkan nilai rata-rata luka tikus kelompok perlakuan sebanyak $31,0 \pm 3,3$. Sementara luka tikus kelompok kontrol mempunyai rata-rata jumlah fibroblas sebanyak $20,4 \pm 1,3$. Berdasarkan pengamatan histologi yang dilakukan, menunjukkan bahwa jumlah fibroblas pada kelompok perlakuan lebih banyak dibandingkan dengan pada kelompok kontrol.

Tabel 1. Hasil Nilai Rata-Rata Jumlah Fibroblas

Variabel	Kelompok	Mean $\pm$ SD
Jumlah Fibroblas	Perlakuan	$31,0 \pm 3,3$
	Kontrol	$20,4 \pm 1,3$



Gambar 1. Gambaran Histologi Fibroblas (menggunakan pewarnaan HE) pada Kelompok Kontrol (A) dan Kelompok Perlakuan (B) Diamati menggunakan mikroskop cahaya (pembesaran 400x)

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini didapatkan dengan menghitung rerata jumlah fibroblas. Pada kelompok kontrol rerata jumlah fibroblas adalah $20,4 \pm 1,3$. Rerata jumlah fibroblas pada kelompok perlakuan, yaitu $31,0 \pm 3,3$. (Tabel 1.) Analisis uji t tidak berpasangan didapat nilai $p=0,001$ ($p<0,05$) menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara jumlah fibroblas kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Pradita (2013) mengenai periodontal dressing dengan kandungan *epigallocatechin gallate* teh hijau meningkatkan sel fibroblas setelah perlakuan gingiva yang menyimpulkan bahwa rerata jumlah fibroblas pada kelompok perlakuan lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol dikarenakan terdapat

senyawa aktif yang diperlukan dalam penyembuhan luka.²⁸ Sementara pada kelompok kontrol hanya diaplikasikan akuades.

Proses penyembuhan luka terjadi secara teratur bertujuan untuk mengembalikan keutuhan jaringan yang telah rusak.²⁹ Proses penyembuhan luka dipengaruhi juga oleh jaringan dan jenis luka.³⁰ Penyembuhan primer terjadi pada luka yang tidak terinfeksi, bersih, dan luka segera melekat dengan bantuan jahitan. Luka mengalami penyembuhan sekunder jika penyembuhannya berjalan secara alami, jaringan granulasi dan epitel akan mengisi bagian jaringan yang terluka.^{29, 30}

Pada kelompok kontrol tetap terjadi penyembuhan luka karena proses penyembuhan yang berlangsung adalah proses penyembuhan yang normal, yakni mengalami fase hemostasis, inflamasi, proliferasi dan remodeling. Setelah

terjadi dilatasi pembuluh darah daerah luka, maka sel darah putih (neutrofil, eosinofil), monosit, makrofag sebagai sel inflamasi akut bermigrasi ke jaringan luka.^{31,32} Fase ini merupakan fase inflamasi dimana neutrofil dan makrofag merupakan sel dominan yang berperan untuk memfagosit mikroorganisme dan sel-sel mati.³¹ Kemudian makrofag, limfosit, dan trombosit merangsang pembentukan fibroblas dengan mensekresikan sitokin (IL-1 dan TNF) dan faktor pertumbuhan seperti TGF- β , bFGF, PDGF. PDGF (platelet-derived growth factor) menginduksi migrasi dan proliferasi fibroblas, sel otot polos dan monosit. bFGF (basic fibroblast growth factor) memediasi makrofag dan fibroblas di bagian terjadinya luka dan menginduksi tahapan untuk angiogenesis. TGF- β (transforming growth factor- β) menginduksi sintesis dan sekresi PDGF, merangsang kemotaksis fibroblas dan produksi kolagen.²⁹

Fibroblas adalah sel yang dominan dalam fase proliferasi.²⁸ Fibroblas bermigrasi dan berproliferasi untuk membentuk jaringan ikat baru dan mensintesis kolagen yang mempengaruhi *tensile strength* dan kekuatan pada tempat penyembuhan luka.³³ Peningkatan fibroblas pada kelompok perlakuan terjadi disebabkan kelompok perlakuan diaplikasikan ekstrak daun ceremai yang kandungannya adalah senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, alkaloid, polifenol dan steroid. Senyawa aktif ini dapat berpengaruh dalam proses penyembuhan luka. Efek utama dari zat aktif pada ekstrak tanaman yang mempunyai potensi terhadap penyembuhan luka adalah zat yang mempunyai aktivitas antimikroba, zat yang bermanfaat sebagai antioksidan, serta komponen aktif yang meningkatkan proliferasi sel, angiogenesis, produksi kolagen.³⁴

Senyawa yang dikenal mempunyai kemampuan sebagai antioksidan adalah polifenol dan flavonoid.^{35,36} Senyawa yang berperan sebagai antioksidan dapat mencegah terjadinya kerusakan atau nekrosis jaringan dengan cara meningkatkan vaskularisasi dan menghambat lipid peroksidasi. Terhambatnya lipid peroksidasi diketahui dapat meningkatkan kekuatan serabut kolagen dengan meningkatkan sintesis DNA pembentuk kolagen tersebut, yakni IGF-1 (insulin-like growth factor) yang berperan sebagai mediator proliferasi fibroblas dan sintesis kolagen.^{32,35,37} Flavonoid diketahui dapat menghambat TNF- α yang berperan dalam apoptosis sel fibroblas.³² Selain itu, flavonoid

mempunyai daya antibakteri yang berfungsi sebagai kontrol infeksi dari mikroorganisme.³⁸ Alkaloid diketahui dapat menstimulasi fibroblas sehingga meningkatkan produksi kolagen.³⁹

Steroid merupakan senyawa antiinflamasi. Aktivitas antiinflamasi dapat mencegah terjadinya inflamasi yang berkepanjangan, sehingga mempercepat penyembuhan luka.³⁷ Saponin adalah senyawa aktif yang juga mempunyai aktivitas sebagai antioksidan dan antimikroba. Selain itu, saponin dapat meningkatkan proliferasi fibroblas dan sintesis matriks ekstraseluler yang baru yang berkaitan dengan pembentukan kolagen tipe I dan III.⁴⁰ Menurut Kanzaki (1998), saponin mempengaruhi dan meningkatkan sintesis dari TGF- β . TGF- β dilepaskan oleh platelet, makrofag, dan limfosit T dan berfungsi sebagai sinyal utama yang meregulasi fungsi fibroblas sehingga jumlah fibroblas meningkat.⁴¹

KESIMPULAN

Berdasar penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) berpotensi sebagai bahan herbal topikal penyembuh luka mukosa oral, seperti tampak dari studi ini berdasarkan perbedaan signifikan jumlah fibroblas pada luka gingiva tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diaplikasikan ekstrak daun ceremai.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lazarus GS, Cooper DM, Knighton DR, et al. Definitions and Guidelines for Assessment of Wounds and Evaluation of Healing. *Wound Repair and Regeneration* 1994; 2(3): 165-70.
2. Velnar T, Balley T, Smrkolj V. The Wound Healing Process : an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *Journal of International Medical Research* 2009; 37(5): 1528-42.
3. Peterson LJ. Principles of Uncomplicated Exodontia. In: Peterson, Ellis, Hupp JR, Tucker MR, editors. *Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery*. 4 ed. United State of America: Mosby; 2003: 114.
4. Orsted HL, Keast D, RN LF-L, Francoise M, MD M. Basic Principles of Wound Healing. *Wound Care Canada* 2011; 9(2): 4-10.

5. Al-Henhena N, Mahmood AA, Al-Magrami A, et al. Histological Study of Wound Healing Potential by Ethanol Leaf Extract of *Strobilanthes crispus* in Rats. *Journal of Medicinal Plants Research* 2011; 5(16): 3660-66.
6. Diegelmann RF, Evans MC. Wound Healing: An Overview of Acute, Fibrotic and Delayed Healing. *Frontiers in Bioscience* 2004; 9: 283-89.
7. Montesano R, Orci L. Transforming growth factor f3 stimulates collagenmatrix contraction by fibroblasts: Implications for wound healing. *Proc. Natl. Acad. Sci Medical Sciences* 1988; 85: 4894-97.
8. Chakraborty R, De B, Devanna N, Sen S. Antiinflammatory, antinociceptive and antioxidant activities of *Phyllanthus acidus* L. extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2012; 12: 953-61.
9. Jagessar RC, Mars A, G G. Selective Antimicrobial properties of *Phyllanthus acidus* leaf extract againts *Candida albicans*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* using Stokes Disc diffusion, Well diffusion, Streak plate and a dilution method. *Nature and Science University of Guyana* 2008; 6(2): 24-38.
10. Negut I, Grumezescu V, Grumezescu AM. Treatment Strategies for Infected Wounds. *Molecules*. 2018; 23(9): 2392.
11. Pratiwi YC, Haryono T, Rahayu YS. Efektivitas Ekstrak Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus*) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* Lentera Bio Journal Universitas Negeri Surabaya 2013; 2(3): 197-201.
12. Shilali K, Ramachandra YL, Rajesh KP, BE KS. Assessing The Antioxidant Potential Of *Phyllanthus Acidus* Bark Extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2014; 6(6): 522-31.
13. Coldren CD, Hashim P, Ali JM, et al. Gene Expression Changes in the Human Fibroblast Induced by *Centella asiatica* Triterpenoid. *Planta Med* 2003; 1(69): 725-32.
14. Oktiarni D, Manaf S, Suripno Pengujian Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* Linn.) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Mencit (*Mus musculus*). Bengkulu: Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu.
15. Prakash NKU, Bhuvaneswari S, Divyasri D, et al. Studies on the Phytochemistry and Bioactivity of Leaves of Few Common Trees in Chennai, Tamil Nadu, India. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2013; 5: 88-91.
16. Yanadaiah JP, Lakshmi SM, Jayaveera KN, Sudhakar Y, Reddy KR. Assesment of Antidiabetic Activity of Ethanol Extracts of *Phyllanthus acidus* Linn and *Basella rubra* Linn Leaves Against Streptozotocin Induced Diabetes in Rats. *International Journal of Universal Pharmacy and Bio Sciences* 2012; 1(2): 77-84
17. Cahyani D. Pengaruh ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) terhadap jumlah fibroblas gingiva tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan secara histopatologis (pada hari ke-7). *Skripsi*. Banda Aceh: Universitas Syiah Kuala; 2014: 24-25.
18. Hudson A, Romagnano A. Mice, Rats, Gerbils, and Hamsters. In: Bonnie B, Cheek R, editors. *Exotic Animal Medicine for The Veterinary Technician*. 2 ed. Iowa: Blackwell Publishing; 2010: 295-96.
19. Agdelia G, Dewi AH, Wahyudi IA. Pengaruh Pemberian Gel Kitosan 3% terhadap Kekuatan Tarik Kulit Tikus dalam Proses Penyembuhan Luka Pasca Insisi (Kajian in vivo). Proceeding Book Lustrum FKG UGM 13 The International Symposium on Oral and Dental Sciences. Yogyakarta: FKG Universitas Gadjah Mada; 2013; 124-28.
20. Indraswary R. Efek Konsentrasi Ekstrak Buah Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) Topikal Pada Epitelisasi Penyembuhan Luka Gingiva Labial Tikus *Sparague Dawley In Vivo*. *Jurnal Majalah Ilmiah Sultan Agung* 2011; 49(124).
21. Prabakti Y. Perbedaan Jumlah Fibroblas Di Sekitar Luka Insisi Pada Tikus Yang Diberi Infiltasi Penghilang Nyeri Levobupivakain Dan Yang Tidak Diberi Levobupivakain. *Tesis*. Semarang: Universitas Diponegoro; 2005: 35.
22. Noorafaqi MI, Yasmina A, Hendriyono F. Efek Jus Buah Karamunting (*Melastoma malabathricum* L.) Terhadap Kadar Triglicerida Serum Darah Tikus Putih yang

[<http://repository.unib.ac.id/396/1/2-Dwita%20Gradien.pdf>. Accessed 22 Mei 2014].

- Diinduksi Propiltiourasil. *Berkala Kedokteran* 2013; 9(2): 219-27.
23. Syawat M. Potensi Pemberian Ekstrak Umbi Teki (*Cyperus rotundus* L) Terhadap Jumlah Neutrofil Jaringan Granulasi Post Ekstraksi Gigi Tikus Wistar Jantan. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember; 2012; 5.
 24. Balqis U, Rasmaidar, Marwiyah. Gambaran Histopatologis Penyembuhan Luka Bakar Menggunakan Daun Kedondong (*Spondias dulcis* F.) dan Minyak Kelapa pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Medika Veterinaria* 2014; 8(1): 31-36.
 25. Nurdan C, Erdem, Ozben. Evaluation of the Effects of Losartan on a Random Pattern Skil Flap Model in Rats. *Turkish Journal of Trauma & Emergency Surgery* 2011; 17(2): 97-102.
 26. Sihardo L. Pengaruh Pemberian Minyak Pandanus conoideus terhadap Gambaran Histologis Ginjal pada Mencit Swiss yang Diinfeksi Plasmodium berghei Anka. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2006: 6.
 27. Putri SS. Potensi Perasan Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) Terhadap Jumlah Sel Fibroblas Pasca Gingivektomi Pada Tikus Wistar Jantan. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember; 2012; 33-34.
 28. Pradita AU, Dhartono AP, Ramadhany CA, Taqwim A. Periodontal Dressing-containing Green Tea Epigallocatechin gallate Increases Fibroblasts Number in Gingival Artificial Wound Model. *Journal of Dentistry Indonesia* 2013; 20(3): 68-72.
 29. Mitchell RN, Cotran RS. Pemulihan Jaringan: Regenerasi dan Fibrosis Sel. In: Kumar V, Cotran RS, Robbins SL, editors. *Robbins Buku Ajar Patologi*. Jakarta: EGC; 2007: 78.
 30. Sugiaman VK. Peningkatan Penyembuhan Luka di Mukosa Oral Melalui Pemberian Aloe Vera (Linn.) secara Topikal. *Jurnal Kedokteran Maranatha* 2011; 11(1): 70-79.
 31. Dewi IALP, Damriyasa IM, Dada IKA. Bioaktivitas Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) Terhadap Periode Epitelisasi Dalam Proses Penyembuhan Luka Pada Tikus Wistar. *Indonesia Medicus Veterinus* 2013; 2(1): 58-75.
 32. Sabirin IPR, Maskoen AM, Hernowo BS. Peran Ekstrak Etanol Topikal Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada Penyembuhan Luka Ditinjau dari Imunoekspresi CD34 dan Kolagen pada Tikus Galur Wistar. *Majalah Kedokteran Bandung* 2013; 45(4): 226-33.
 33. Hanna JR, JA G. A Review of Wound Healing and Wound Healing Dressing Products. *Journal of Foot and Ankle Surgery* 1997; 36(1): 2-14.
 34. Ghosh PK, Gaba A. Phyto-Extracts in Wound Healing. *Journal Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2013; 16(5): 760-820.
 35. Redha A. Flavonoid:Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian* 2010; 9(2): 196-202.
 36. N Tamilselvi, Krishnamoorthy P, Arumugam P, Sagadevan E. Analysis of total phenols, total tannins and screening of phytochemicals in *Indigofera aspalathoides* (Shivanar Vembu) Vahl EX DC. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2012; 4(6): 3259-62.
 37. Arun M, Satish S, Anima P. Herbal Boon For Wounds. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2013; 5(2): 1-12.
 38. Subekti EN Penyembuhan Luka dengan Jati. Surabaya: Universitas Airlangga. [http://skp.unair.ac.id/repository/webpdf/web_Penyembuhan_luka_dengan_jati_ERLI_SA_NURWAHIDA_SUBEKTI.pdf.] Accessed 30 April 2014.
 39. Werning JW. Oral Precancer. In: Werning JW, editor. *Oral Cancer: Diagnosis, Management, and Rehabilitation*. Stuttgart: Thieme; 2011: 15.
 40. Exclusive NA. Asiatic Centella Eco. Provital Group Natural Efficacy 2011; 1(3): 1-8.
 41. Kanzaki T, Morisaki N, Shiina R, Saito Y. Role of Transforming Growth Factor-Beta Pathway in the Mechanism of Wound Healing by Saponin from Ginseng Radix rubra *The British Journal Pharmacology* 1998; 125(2): 255-62.