

Pemberian Salep Ekstrak Daun Kersen, Efektif Meningkatkan Proses Angiogenesis Pada Kesembuhan Luka Insisi Kulit Mencit Hiperglikemia

(KERSEN LEAF EXTRACT OINTMENT, EFFECTIVE TO INCREASE THE ANGIOGENESIS PROCESS ON SKIN INCISION WOUND HEALING OF HYPERGLYCEMIA MICE)

**Laras Ayu Nadira¹, Anak Agung Gde Jayawardhita²,
Anak Agung Ayu Mirah Adi³**

¹Mahasiswa Pendidikan Sarjana Dokter Hewan,

²Laboratorium Ilmu Bedah Veteriner,

³Laboratorium Patologi Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,
Jl. Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

Telp/Fax: (0361)223791

e-mail: larasayundr@gmail.com

ABSTRAK

Kesembuhan luka pada penderita hiperglikemia akan lebih lambat dari kesembuhan luka normal yang disebabkan oleh tingginya kadar glukosa di dalam darah, sehingga menurunkan aliran darah dan memperlambat proses mengeringnya luka. Dalam upaya penyembuhan luka yang dikomplikasi dengan hiperglikemia, dapat dilakukan dengan penggunaan pengobatan tradisional, salah satunya dengan ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*). Tujuan penelitian ini yakni untuk mengetahui pengaruh pemberian salep ekstrak daun kersen terhadap percepatan kesembuhan luka insisi kulit mencit yang mengalami hiperglikemia melalui pengamatan proses angiogenesis. Penelitian ini menggunakan sebanyak 24 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan sebagai hewan coba yang dibagi ke dalam 4 kelompok perlakuan, (T0) dengan konsentrasi ekstrak daun kersen 0%, (T1) 30%, (T2) 40%, dan (T3) 50%. Mencit diinduksi menggunakan aloksan (150 mg/kg BB, intraperitoneal) agar hiperglikemia, kemudian diinsisi di punggung dengan panjang luka $\pm 1,5$ cm dan kedalaman ± 2 mm hingga mencapai *subcutan*. Selanjutnya diberikan perlakuan menggunakan salep ekstrak daun kersen secara topikal selama 5 hari, lalu dibiopsi pada hari ke-6. Proses penyembuhan luka diamati pada preparat histopatologi berdasarkan hasil angiogenesis, lalu dilakukan perhitungan rerata jumlah pembuluh darah pada masing-masing perlakuan. Hasil yang didapatkan adalah pemberian salep ekstrak daun kersen pada luka insisi kulit mencit hiperglikemia terbukti dapat meningkatkan proses angiogenesis, dilihat dari hasil perbandingan rerata jumlah pembuluh darah antara keempat kelompok perlakuan. Dapat disimpulkan bahwa konsentrasi ekstrak daun kersen 50% terbukti memiliki rerata jumlah pembuluh darah hasil proses angiogenesis yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 0%, 30%, dan 40% sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka insisi kulit mencit yang mengalami hiperglikemia.

Kata-kata kunci: angiogenesis; daun kersen; hiperglikemia; kesembuhan luka; luka insisi

ABSTRACT

Wound healing in patients with hyperglycemia will be slower than normal wound healing because of the high glucose levels in the blood in which could reduce the blood flow and slow down the process of wound drying. In an order to heal wound that complicated by hyperglycemia, traditional medicine can be used, including extracts of kersen leaf (*Muntingia calabura L.*). This study aims to determine the effect of kersen leaf extract ointment on the acceleration of skin incision wound healing in hyperglycemic mice by observing the process of angiogenesis. This study used 24 male mice (*Mus musculus*) as experimental animals which were divided into 4 treatment groups, (T0) with 0% concentration of kersen leaves extracts, (T1) 30%, (T2) 40%, and (T3) 50%. Mice were induced using alloxan (150 mg/kg body weight, intraperitoneal) for hyperglycemia, then incised on the back with a wound length of ± 1.5 cm and a depth of ± 2 mm until subcutan. Next given the treatment with topical kersen leaf extract ointment for 5 days, then biopsied on day 6. The wound healing process was observed in histopathological preparations based on the results of angiogenesis, then the mean number of blood vessels calculated for each treatment. From the results of the comparison of the mean number of blood vessels between the four groups, the result is the application of kersen leaf extract ointment on the skin incision wound of hyperglycemic mice has been shown to increase the process of angiogenesis. It can be concluded that the concentration of 50% kersen leaf extract was shown to have a higher mean number of blood vessels resulting from the angiogenesis process compared to concentrations of 0%, 30%, and 40% so that it could accelerate the healing process of the incision wound of the mice's skin with hyperglycemia.

Keywords: angiogenesis; hyperglycemia; incision wound; kersen leaf; wound healing

PENDAHULUAN

Suatu keadaan ketika kadar glukosa di dalam darah melebihi kadar normal disebut dengan hiperglikemia (Kementerian Kesehatan RI, 2014). Hiperglikemia dapat menyebabkan berbagai komplikasi sistem vaskuler yang mengakibatkan kelainan pada pembuluh darah, mata, ginjal, saraf, dan lainnya. Gangguan pada peredaran pembuluh darah baik besar dan kecil dapat menyebabkan sirkulasi darah menjadi kurang baik, malnutrisi, dan berkurangnya oksigenasi sehingga mengalami hipoksia (Mayfield *et al.*, 1998). Pada keadaan hiperglikemia, hipoksia menjadi lebih lama dari keadaan normal. Kondisi perpanjangan masa hipoksia ini menyebabkan naiknya jumlah radikal oksigen dan menurunnya jumlah *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), hal ini dapat mempengaruhi proses angiogenesis kesembuhan luka (Goldin *et al.*, 2006). VEGF diketahui sebagai promotor dari angiogenesis dan penurunannya akan mempengaruhi penurunan jumlah rerata pembuluh darah (Esimone *et al.*, 2008; Frisca *et al.*, 2009; Giovana *et al.*, 2009).

Fase penyembuhan luka secara umum meliputi homeostasis, inflamasi, proliferasi, dan *remodelling*/maturasi. Pada fase proliferasi terdapat proses pembentukan pembuluh

kapiler baru di dalam luka yang dikenal dengan proses angiogenesis. Angiogenesis berasal dari kata “*angio*” yang berarti pembuluh darah dan “*genesis*” yang berarti pembentukan. Angiogenesis adalah suatu proses pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang sudah ada sebelumnya pada jaringan yang mengalami perlukaan (Ramasastry, 2005). Angiogenesis merupakan salah satu kunci dari kesembuhan luka (Nugroho, 2005). Penderita hiperglikemia memiliki kadar oksigen dalam darah yang relatif lebih sedikit dari keadaan normal, maka proses penyembuhan luka seperti angiogenesis dapat terhambat (Frisca *et al.*, 2009).

Dalam upaya penyembuhan luka penderita hiperglikemia yang memerlukan perawatan luka intensif, dapat dilakukan dengan penggunaan pengobatan tradisional. Salah satu jenis pengobatan tradisional adalah dengan menggunakan tanaman kersen (*Muntingia calabura L.*). Pemilihan penggunaan daun kersen karena memiliki senyawa fitokimia yang menunjukkan aktivitas dan khasiat sebagai antioksidatif, antimikrobia, antiseptik, antiinflamasi, anti diabetes, anti tumor, dan juga anti asam urat karena mengandung *flavonoid*, *tannin*, *triterpene*, *saponin*, polifenol, asam askorbat, serat, niasin, dan betakaroten (Zakaria *et al.*, 2011). Kandungan *tannin*, *saponin*, dan *flavonoid* yang terkandung diketahui memiliki efek proangiogenik sehingga menunjang penyembuhan luka dalam hal pembentukan pembuluh darah (angiogenesis), dapat meningkatkan ekspresi VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) sebagai stimulator terjadinya angiogenesis, dan dapat meningkatkan proses angiogenesis (Phillip *et al.*, 2009; Apriasari *et al.*, 2016; Apriasari *et al.*, 2017).

Melalui beberapa penelitian yang sudah dilakukan, ekstrak daun kersen dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan penyembuhan luka yang diberikan secara topikal. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Ariesti *et al.* (2014), penggunaan salep ekstrak daun kersen dengan konsentrasi 20% dan 40% dapat mempercepat penyembuhan luka yang sebanding dengan *Gentamicin* 0,1% dan mampu memperpendek waktu proses penyembuhan luka insisi pada tikus putih non-hiperglikemia. Sedangkan, pada proses penyembuhan luka bakar menggunakan ekstrak daun kersen pernah dilakukan oleh Ibad *et al.* (2013) dimana pemberian ekstrak daun kersen 50% pada luka bakar derajat II memberikan pengaruh yang sangat signifikan dalam menurunkan derajat eritema dan inflamasi pada luka.

Berdasarkan uraian tersebut, maka peneliti melakukan penelitian mengenai efektivitas pemberian salep ekstrak daun kersen (*M. calabura L.*) terhadap proses

angiogenesis penyembuhan luka insisi khususnya pada penderita hiperglikemia. Hasil penelitian diharapkan dapat menambah informasi mengenai khasiat dari kandungan daun kersen sehingga dapat diaplikasikan sebagai salah satu alternatif dari pengobatan tradisional bagi manusia ataupun hewan guna mempercepat proses penyembuhan luka pada kulit penderita hiperglikemia.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan mencit (*Mus musculus*) berjenis kelamin jantan, usia 8-12 minggu, sehat, berat badan masing masing 20-25 gram, sebanyak enam ekor untuk tiap perlakuan dengan total keseluruhannya adalah 24 ekor. Mencit diadaptasikan terlebih dahulu selama satu minggu. Selanjutnya dilakukan pengecekan darah dimana darah diambil pada bagian ekor sebanyak satu tetes yang diperiksa menggunakan *Stripstest* sebelum dan sesudah diinjeksi Aloksan (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) sebanyak 150 mg/kg BB secara intraperitoneal, lalu diamati selama tiga hari. Mencit-mencit yang dinyatakan telah mengalami hiperglikemia diinjeksi anestesi dengan Ketamine sebanyak 50 mg/kg BB, selanjutnya dibuat luka insisi menggunakan *scalpel* pada kulit di bagian punggung dengan panjang luka $\pm 1,5$ cm dan kedalaman ± 2 mm hingga mencapai subkutan. Pada luka insisi yang telah dibuat, dilakukan pemberian salep ekstrak daun kersen secara topikal dengan konsentrasi yang berbeda (0%, 30%, 40%, dan 50%) selama 5 hari 2 kali sehari. Pada hari ke-6 dilakukan biopsi dengan pemberian anestesi terlebih dahulu menggunakan *Ketamine*.

Biopsi kulit mencit dilakukan untuk pembuatan preparat histopatologi. Biopsi kulit setiap mencit dilakukan dengan menggunakan gunting bedah yang steril terlebih dahulu, kemudian dilakukan pengambilan sediaan kulit berukuran 1,5 x 1,5 cm. Sampel kulit yang sudah dipotong difiksasi dengan dimasukkan ke dalam empat pot berbeda yang berisikan larutan formalin 10% untuk dipisahkan sesuai perlakuan (salep ekstrak daun kersen konsentrasi 0%, 30%, 40%, dan 50%). Hasil biopsi dibuat menjadi preparat histopatologi untuk dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis.

Pembuatan ekstrak diawali dengan pengeringan daun kersen (diangin-anginkan atau tanpa paparan matahari). Daun yang telah kering dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk halus. Serbuk yang terbentuk diekstraksi menggunakan etanol 96% secara teknis maserasi. Hasil maserasi dikumpulkan dan disaring. Pemekatan dilakukan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental dari serbuk daun kersen. Hasil ekstraksi

dicampurkan dengan *vaselin album* dan dibuat dalam tiga variasi kandungan ekstrak, yaitu 30%, 40%, dan 50%.

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorik Rancangan Acak Lengkap dengan pembagian Perlakuan I (T_0) diberikan *vaselin album* (tanpa campuran ekstrak daun kersen), Perlakuan II (T_1) diberikan salep ekstrak daun kersen dengan konsentrasi 30%, Perlakuan III (T_2) konsentrasi ekstrak daun kersen 40%, dan Perlakuan IV (T_3) konsentrasi ekstrak daun kersen 50%. Masing-masing perlakuan terdiri atas 6 ekor mencit jantan sebagai ulangan.

Preparat histopatologi selanjutnya diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali untuk dihitung jumlah pembuluh darah hasil proses angiogenesis. Jumlah pembuluh darah diamati pada lima lapang pandang mikroskopik pada masing-masing perlakuan. Data hasil rerata jumlah pembuluh darah pada tiap perlakuan selanjutnya dianalisis dengan uji parametrik *One Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Jika terdapat perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji lanjutan Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Melalui hasil dari pengamatan pada preparat histopatologi secara mikroskopik, pemberian salep ekstrak daun kersen terhadap proses penyembuhan luka insisi pada kulit mencit hiperglikemia menunjukkan adanya perbedaan dalam hasil rerata jumlah pembuluh darah.

Tabel 1. Perbandingan rerata jumlah pembuluh darah pada masing-masing perlakuan pada luka insisi mencit hiperglikemia yang diobati dengan salep ekstrak daun kersen

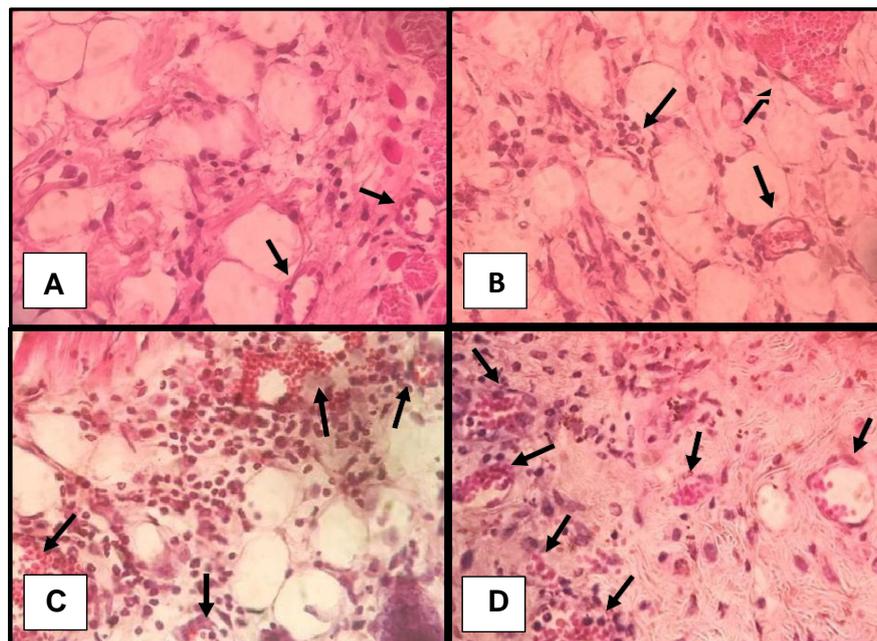
Perlakuan (T)	N	Rata-Rata	Std. Deviation
T_0 (0%)	6	1,00	0,00
T_1 (30%)	6	1,33	0,10
T_2 (40%)	6	1,43	0,08
T_3 (50%)	6	1,73	0,10
Total	24	1,37	0,27

Hasil perbandingan rerata jumlah pembuluh darah dari keempat perlakuan dengan pemberian salep ekstrak daun kersen konsentrasi 0%, 30%, 40%, dan 50%, terdapat perbedaan terhadap perbandingan rerata dari jumlah pembuluh darah, yakni peningkatan dari perlakuan T_0 hingga T_3 . Pada perlakuan T_3 dimana konsentrasi ekstrak daun kersen

sebanyak 50%, perbandingan jumlah rerata pembuluh darahnya berangsur meningkat dengan jumlah total yang lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan I (T_0) dengan konsentrasi 0% selaku kontrol, perlakuan II (T_1) dengan konsentrasi 30%, maupun perlakuan III (T_2) dengan konsentrasi 40 (Tabel 1).

Melalui uji parametrik *One Way* ANOVA, diperoleh kesimpulan yakni adanya perbedaan yang bermakna terhadap perbandingan rerata jumlah pembuluh darah hasil proses angiogenesis pada keempat perlakuan, sehingga uji harus dilanjutkan dengan uji lanjutan yakni Uji perbandingan berganda Duncan. Melalui uji Duncan diperoleh hasil terdapat perbedaan yang signifikan nyata ($P \leq 0.05$) antara perlakuan T_0 dengan T_1 , T_2 , dan T_3 , begitu juga antara perlakuan T_3 dengan T_0 , T_1 , dan T_2 . Sementara itu, perlakuan T_1 tidak berbeda secara signifikan dengan T_2 .

Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan T_3 atau salep ekstrak daun kersen konsentrasi 50% memiliki rerata jumlah pembuluh darah hasil proses angiogenesis yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (konsentrasi ekstrak daun kersen 0%) atau T_0 , T_1 (konsentrasi ekstrak daun kersen 30%), maupun T_2 (konsentrasi ekstrak daun kersen 40%). Peningkatan rerata jumlah pembuluh darah berbanding lurus dengan konsentrasi daun kersen yang diberikan dalam bentuk salep.



Gambar 1. Histopatologi kulit mencit hiperglikemia pasca perlakuan pemberian salep ekstrak daun kersen dengan konsentrasi ekstrak daun kersen 0% (A), 30% (B), 40% (C), dan 50% (D). Pembuluh darah ditunjukkan dengan panah (HE, 400X).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian salep ekstrak daun kersen dapat mempengaruhi proses angiogenesis dalam penyembuhan luka insisi pada kulit mencit putih yang mengalami hiperglikemia. Dapat dibuktikan dalam gambaran preparat histopatologi kulit mencit putih hiperglikemia yang telah diberikan keempat perlakuan (salep ekstrak daun kersen konsentrasi 0%, 30%, 40%, dan 50%), rerata jumlah pembuluh darah yang terbentuk dari proses angiogenesis meningkat mulai dari konsentrasi 0% hingga konsentrasi 50% (Gambar 1).

Pada perlakuan T₀ dengan pemberian salep ekstrak daun kersen konsentrasi 0%, ditemui pembuluh darah ±0-13 per-lapang pandang secara mikroskopik. Pemberian salep ekstrak daun kersen konsentrasi 30% sebagai perlakuan T₁, ditemukan ±6-15 pembuluh darah. Ditemukan ±9-17 pembuluh darah pada perlakuan T₂ dengan pemberian salep ekstrak daun kersen konsentrasi 40%. Sedangkan, pada perlakuan T₃ dengan pemberian konsentrasi 50% ekstrak daun kersen, terdapat ±11-19 pembuluh darah. Tampak bahwa pemberian salep ekstrak daun kersen dengan konsentrasi 50% memiliki kemampuan yang lebih baik dalam meningkatkan proses angiogenesis sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka insisi kulit mencit hiperglikemia.

Pada penelitian ini, mencit (*M. musculus*) yang mengalami hiperglikemia setelah diinduksi dengan menggunakan aloksan mengalami gangguan pada pankreas sehingga tidak dapat menghasilkan insulin dan terjadi kenaikan kadar gula darah hingga mengalami hiperglikemia (Nurfahmiatunnisa *et al.*, 2019). Menurut Alarcon-Aguilar *et al.* (2006), mencit dengan glukosa darah diatas ±200 mg/dL adalah yang digunakan pada penelitian karena mencit sudah dianggap mengalami hiperglikemia. Dalam kondisi hiperglikemia, terjadi gangguan peredaran pembuluh darah baik besar dan kecil sehingga menyebabkan keadaan hipoksia dan sirkulasi darah menjadi kurang baik yang dapat menimbulkan sumbatan pada aliran darah. Menurut Goldin *et al.* (2006), pada keadaan hiperglikemia hipoksia akan terjadi lebih lama dari keadaan normal sehingga menyebabkan menurunnya jumlah *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang akan mempengaruhi proses angiogenesis atau pembentukan pembuluh darah.

Proses penyembuhan luka yang lambat pada penderita hiperglikemia dikarenakan tingginya kandungan glukosa di dalam darah sehingga memperlambat proses mengeringnya luka dan membutuhkan perawatan luka yang baik dan intensif agar mampu menyerap kelebihan cairan pada luka. Salah satu faktor penentu kesuksesan dalam proses penyembuhan luka adalah kecukupan oksigen pada sel yang berperan dalam penyembuhan

luka (Fitrian *et al.*, 2018). Oleh karena penderita hiperglikemia memiliki kadar oksigen dalam darah yang relatif lebih sedikit dari keadaan normal, maka proses penyembuhan luka seperti angiogenesis dapat terhambat (Frisca *et al.*, 2009; Sharp dan Clark, 2011).

Pertumbuhan pembuluh darah yang lebih cepat seperti pada perlakuan T₂ dan T₃ terjadi dikarenakan pemberian ekstrak daun kersen dalam bentuk salep yang mengandung *flavonoid*, *saponin*, dan *tannin* yang diketahui memiliki efek proangiogenik sehingga menunjang penyembuhan luka dalam hal pembentukan pembuluh darah (angiogenesis) dan juga dapat meningkatkan ekspresi VEGF sebagai stimulator terjadinya angiogenesis (Phillip *et al.*, 2009; Apriasari *et al.*, 2016; dan, Apriasari *et al.*, 2017). *Flavonoid* yang terkandung dalam daun kersen bermanfaat sebagai antiinflamasi, antioksidan, serta antimikroba dengan meningkatkan vaskularisasi dan menurunkan *oedema*. *Tannin* bersifat antimikroba, meningkatkan epitelisasi, dan diduga berperan dalam pengaturan transkripsi dan translasi VEGF. Sementara, *saponin* diketahui dapat menstimulasi angiogenesis dengan merangsang dan meningkatkan produksi VEGF, mempercepat fase inflamasi, dan mempercepat proses penyembuhan luka (Majewska dan Darmach, 2011; Pastar *et al.*, 2013; Rohmah *et al.*, 2016).

Dalam proses penyembuhan luka, memerlukan pembuluh darah yang banyak untuk membantu mempercepat penyembuhan dengan meningkatkan sirkulasi oksigen dan perfusi jaringan (Nugroho *et al.*, 2016). Proses angiogenesis yang menghasilkan pembuluh darah berperan dalam mempertahankan kelangsungan fungsi berbagai jaringan atau organ yang terkena, memberikan suplai oksigen, nutrisi, sel inflamasi, serta menghilangkan jaringan yang mengalami nekrosis (Figg dan Folkman, 2008). Semakin banyak ditemukannya pembuluh darah maka semakin cepat perbaikan jaringan sehingga proses penyembuhan luka semakin cepat.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa pemberian salep ekstrak daun kersen terbukti dapat meningkatkan proses angiogenesis sehingga mempercepat proses penyembuhan luka insisi kulit mencit yang mengalami hiperglikemia. Pemberian salep ekstrak daun kersen dengan konsentrasi 50% memiliki kemampuan yang lebih baik dalam meningkatkan proses angiogenesis dibandingkan dengan konsentrasi 0%, 30%, dan 40%.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian ekstrak daun kersen dalam hal dosis, dan toksisitas dengan rentang waktu yang lebih lama untuk mengetahui lebih pasti peranan ekstrak daun kersen dalam proses angiogenesis penyembuhan luka, khususnya pada luka penderita hiperglikemia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Ilmu Bedah dan Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, serta semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alarcon-Aguilar FJ, Vega-Avila E, Alamanza-Perez J, Valesco-Lezama R, Vazquez-Carrillo L, Ramon-Ramos R. 2006. Hypoglycemic effect of *Plantago major* L. seeds in healthy and alloxan diabetic mice. *Proceedings West. Pharmacol Soc Hlm.* 51-54.
- Apriasari ML, Dachlan YP, Ernawati DS. 2016. Effect of *Musa acuminata* stem by immunohistochemistry test in ulcer. *Asian Journal of Biochemistry* 11(3): 135-141.
- Apriasari ML, Dachlan YP, Ernawati DS. 2017. *Potensi Bahan Alam Penyembuh Ulkus Mukosa Mulut*. Jakarta: Salemba Medika. Hlm. 4-8.
- Ariesti ND, Sunnah I, Widiantara IGR. 2014. Uji efektivitas salep ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap lama kesembuhan luka insisi tikus putih yang terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi dan Obat Alam* 2(2): 16-23.
- Esimone C, Nworu, Jackson CC. 2008. Cutaneous wound healing activity of a herbal ointment containing the leaf extract of *Jatropha curcas* L. (*Euphorbiaceae*). *Int Appl Res Nat Project* 1(4): 1-4.
- Figg WD, Folkman J. 2008. *Angiogenesis An Integrative Approach From Science to Medicine*. USA: Springer Science. Hlm. 536.
- Fitrian A, Bashori A, Suidiana IK. 2018. Efek angiogenesis gel ekstrak daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) pada luka insisi tikus. *Jurnal Biosains Pascasarjana* 20(1): 24.
- Frisca, Sardjono CT, Sandra F. 2009. Angiogenesis: patofisiologi dan aplikasi klinis. *Jurnal Kedokteran Maranantha* 8(2): 174-87.
- Giovana S, Di Marco, Stefan R, Uta H, Susanne A, Maximilian, König, Etienne L, Hans O, Eva B, Hermann P, Marcus B. 2009. The soluble VEGF receptor sFlt1 contributes to endothelial dysfunction in CKD. *Journal of the American society of Nephrology* 20(10): 2235-2245.
- Goldin A, Beckman JA, Schmidt MA, Creager MA. 2006. Advanced glycation end product: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation* 114(6): 597-605.
- Ibad MR, Nasution TH, Andarini S. 2013. Pengaruh ekstrak daun kersen (*Muntingia*

calabura) terhadap derajat eritema pada proses inflamasi marmut (*Cavia porcellus*) dengan luka bakar derajat II dangkal. *Jurnal Ilmu Keperawatan* 1(2): 157-161.

- Kementerian Kesehatan RI. 2014. Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2013. Jakarta.
- Majewska I, Darmach EG. 2011. Proangiogenic activity of plant extracts in accelerating wound healing – a new face of old phytomedicine. *Acta Biochimica Polonica* 58(4): 449-460.
- Mayfield JA, Reiber GE, Sanders LJ, Janisse D, Pogach LM. 1998. Preventive foot care in people with diabetes (technical review). *Diabetes Care* 21(12): 2161–2177.
- Nugroho TS. 2005. Pengaruh Infiltrasi Levobupivakain 0,25 % Terhadap kuantitas Angiogenesis Tikus Wistar Pada Proses Penyembuhan Luka Insisi Hari Ke-5. Disertasi Doktoral. Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro.
- Nugroho AM, Elfiah U, Normasari R. 2016. Pengaruh gel ekstrak dan serbuk mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap angiogenesis pada penyembuhan luka bakar derajat IIB pada tikus wistar. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan* 4(3): 446.
- Nurfahmiatunnisa, Hassan MS, Erviani AE. 2019. Uji Potensi ekstrak cacing laut *Eunice sicilensis* terhadap kadar gula darah tikus *rattus novergicus*. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan* 10(2): 39-47.
- Pastar I, Stojadinovic O, Yin NC, Ramirez H, Aron GN. 2013. Epithelization in wound healing a comprehensive review. *Advances in Wound Care* 3(7): 451.
- Phillip B, Arber K, Marjana T, Canic, Michael S, Golinko H, Paul E, Harold B. 2009. The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. *Journal of Surgical Research* 153(2): 347-358
- Ramasastri SS. 2005. Acute Wound. *Clinic in Plastic Surg* 32: 195-208.
- Rohmah SN, Fuadah DZ, Girianto WR. 2016. Efektifitas daun petai cina (*Leucaena leucocephala*) dan Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) terhadap Proses penyembuhan luka bakar grade II pada tikus putih (*Rattus novergicus*). *Jurnal Ilmu Keperawatan* 4(1): 20-33.
- Sharp A, Clark J. 2011. Diabetic and its effect on wound healing. *Nursing Standard* 25(45): 41-47.
- Zakaria ZA, Mohammaed AM, Jamil NSM. 2011. In vitro antiproliferative and antioxidatif activities of the extracts of muntingia calabura leaves. *The America Journal of Chinese Medicine* 39(1): 183-200.