

PENELITIAN

UJI EFEKTIVITAS KRIM EKSTRAK ETANOL BUNGA KAMBOJA (*PLUMERIA SP.*) DALAM PENYEMBUHAN ULKUS KAKI PADA TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSANKlarissa Suhartanto¹, Anggleri Julia Yusuf¹, Evelyn Andreana Prijadi¹

ABSTRAK

Pendahuluan: Diabetes mellitus merupakan salah satu penyakit dengan jumlah kasus yang cukup tinggi. Komplikasi diabetes mellitus, seperti ulkus kaki diabetikus, jarang dibahas. Pengobatan ulkus kaki diabetikus sering menjadi beban karena mahal biaya perawatan luka sehingga dibutuhkan terobosan. Flavonoid sering dilaporkan memiliki manfaat terhadap penyembuhan luka. Salah satu tanaman yang mengandung flavonoid adalah bunga kamboja (*Plumeria sp.*).

Metode: Krim dibuat dengan 3 konsentrasi, yaitu 25%, 50%, dan 75%. Krim diberikan pada tikus putih sebanyak 24 ekor dan diinduksi aloksan. Krim diberikan sebanyak 2 kali sehari dan diamati luas luka nya selama 7 hari. Lalu, tikus akan dieutanasia untuk diambil kulitnya dan dilakukan pengamatan histologi dengan preparat hematoxylin eosin untuk melihat kolagen. Luas kolagen dihitung dengan aplikasi *ImageJ*.

Hasil: Penutupan luka dan luas kolagen kelompok dengan perlakuan lebih baik daripada tanpa perlakuan. Rata-rata penutupan luka hewan kelompok I adalah 37,25%, kelompok II adalah 75,75%, kelompok III adalah 66,67%, dan kelompok IV adalah 61,70%. Sedangkan rata-rata luas kolagen kelompok I adalah 265776 pixel², kelompok II 399579,5 pixel², kelompok III 281749,75 pixel², dan kelompok IV 271382,9 pixel².

Pembahasan: Hasil terbaik adalah kelompok II. Peningkatan dosis krim tidak memberikan efek yang lebih signifikan sehingga dosis 25% adalah dosis maksimal efektif/*Maximum Effective Dose (MaxED)*. MaxED ini berarti peningkatan dosis tidak akan menunjukkan adanya peningkatan efikasi.

Simpulan: Pemberian krim ekstrak bunga kamboja (*Plumeria sp.*) dengan konsentrasi 25% memiliki efektivitas yang paling tinggi untuk penyembuhan ulkus kaki diabetikus.

Kata kunci: Bunga Kamboja, Ulkus Kaki Diabetikus, Kolagen, Flavonoid

ABSTRACT

Introduction: Diabetes mellitus is a disease with a high number of cases. Complication of diabetes mellitus, such as diabetic foot ulcer, is rarely discussed. Treatment of diabetic foot ulcers often become a burden due to high cost, so a breakthrough is needed. Flavonoids have been reported to have benefits on wound healing. One of the plants that contain flavonoids is frangipani flower (*Plumeria sp.*).

Methods: The cream made in 3 concentrations : 25%, 50%, and 75%. Cream was given to 24 rats that had been induced with alloxan. The cream will be given 2 times a day and the wound area is observed for 7 days. The rats will be euthanized and histological observations are made by hematoxylin preparations for collagen that will be analysis by *ImageJ*.

Results: Wound closure and collagen area of the treated group better than the control group. The average wound closure of group I was 37.25%, group II was 75.75%, group III was 66.67%, and group IV was 61.70%. The average area of collagen in group I is 265776 pixels², group II is 399579.5 pixels², group III is 281749.75 pixels², and group IV is 271382.9 pixels².

Discussion: The best result is group II. Increasing the dose of the cream didn't give more significant effect so 25% dose was the maximum effective dose (*MaxED*).

Conclusion: The administration of frangipani flower extract cream (*Plumeria sp.*) effective for diabetic foot ulcers and the maximum effective dose was 25%.

Keywords: Frangipani Flower, Diabetic Foot Ulcers, Collagen, Flavonoids

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) merupakan penyakit *silent killer* yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah, kegagalan sekresi insulin atau penggunaan insulin yang tidak adekuat. Berdasarkan data dari WHO, secara global pada tahun 2014 diperkirakan terdapat 422 juta orang dewasa mengalami diabetes. Kasus diabetes di Indonesia diperkirakan akan mencapai 21,3 juta penduduk pada tahun 2030. Selain angka kejadian yang tinggi, komplikasi dari penyakit DM yaitu Ulkus Kaki Diabetikus (UKD) masih merupakan salah satu komplikasi kronik yang sering terjadi dan berakhir dengan amputasi bahkan kematian.^[1] Menurut studi epidemiologi, diperkirakan sekitar 15% pasien yang menderita diabetes mengalami UKD sebagai komplikasinya.^[2] Kejadian UKD di Indonesia mencapai 7-24%.^[3] Selain itu, sekitar 14-24% di antara pasien dengan UKD harus diamputasi.

Kejadian amputasi anggota gerak bawah 85% disebabkan oleh UKD.^[2] Kasus ini dapat terjadi karena degradasi kolagen dan jumlah radikal bebas mengalami peningkatan pada UKD sehingga luka sulit sembuh.^[4]

Tanaman kamboja merupakan salah satu tanaman yang banyak dibudidayakan di Bali, bahkan sampai menjadi ikon Bali. Sampai sekarang pemanfaatan tanaman kamboja paling sering sebagai hiasan dan keperluan peribadatan. Dalam pengobatan tradisional (Usada) masyarakat Bali, tanaman Kamboja merupakan tanaman obat yang dapat dimanfaatkan untuk meredakan nyeri.^[5] Sementara itu, salah satu studi etnofarmasi *Plumeria sp.* khususnya bagian bunga *Plumeria rubra* dapat dimanfaatkan sebagai obat analgesik serta obat pada luka yang sukar disembuhkan.^[6] Adapun zat aktif yang dapat membantu penyembuhan luka yaitu flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin.^[7] Flavonoid

¹ Program Studi Sarjana Kedokteran dan Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana.

berasal dari senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antioksidan untuk menghambat reaksi oksidatif berlebihan akibat proses inflamasi atau metabolisme tubuh dan juga dapat membantu proses reepitelisasi pada luka dengan hasil yang lebih baik daripada betadin karena dapat meningkatkan vaskularisasi.^[8]

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah yang akan diangkat yaitu apa saja kandungan yang terdapat dalam ekstrak bunga kamboja dan bagaimana efektivitas krim bunga kamboja dengan konsentrasi ekstrak yang berbeda dalam penyembuhan UKD pada hewan coba. Diharapkan dengan adanya penelitian ini dapat meningkatkan wawasan ilmiah mengenai kegunaan bunga kamboja sebagai salah satu alternatif pengobatan UKD serta kedepannya penelitian-penelitian mengenai kegunaan bunga kamboja lebih banyak lagi dilakukan sehingga dapat memberikan manfaat klinis yang lebih banyak. Selain itu, penelitian ini diharapkan memiliki manfaat sosial berupa peningkatan nilai jual bunga kamboja sehingga masyarakat yang membudidayakan menjadi sejahtera dan dapat mengurangi pencemaran lingkungan akibat limbah bunga kamboja yang sering tidak dimanfaatkan.

METODE

Pengajuan *Ethical Clearance*

Penelitian ini sudah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dengan nomor *Ethical Clearance* 2002/UN14.2.2.VII.14/LT/2021

Pembuatan Basis Krim

Pembuatan basis krim dilakukan dengan cara memanaskan fase minyak (paraffin liquidum, asam stearat, dan adeps lanae) dan fase air (TEA, nipagin, nipasol, dan aquades) menggunakan *waterbath* pada suhu 60^o–70^oC sampai lebur. Kemudian, fase air dan fase minyak dicampur lalu digerus sampai dingin sehingga terbentuk basis krim yang homogen.^[9] Pembuatan basis krim dilakukan di Laboratorium Fitokimia Farmasi Udayana.

Pembuatan Ekstrak Bunga Kamboja

Bunga kamboja dikeringkan selama 6 hari dengan tidak terkena sinar matahari langsung. Setelah itu, bunga kamboja diblender sampai halus lalu direndam dalam 5 liter alkohol 70%. Setelah 24 jam, ekstrak disaring dengan kain saring. 24 jam berikutnya dilakukan penyaringan kedua. Kemudian dilakukan pemekatan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak dimasukkan ke dalam alat dengan suhu 40^oC selama 1,5 jam dan kecepatan 100 rpm sampai didapatkan ekstrak pekat.^[10] Pembuatan ekstrak bunga kamboja dilakukan di Laboratorium Fitokimia Farmasi Udayana.

Pengujian Fitokimia

Uji flavonoid dilakukan dengan memasukkan ekstrak ke tabung reaksi kemudian dipanaskan selama 5 menit. Setelah itu, diteteskan HCl dan 200 mg Magnesium. Ekstrak mengandung flavonoid jika didapatkan warna merah magenta dalam waktu 3 menit.^[10]

Uji alkaloid dilakukan dengan menambahkan 10 tetes asam sulfat pada ekstrak lalu dikocok hingga terbentuk 2 lapisan. Kemudian ditambahkan dragendorff. Ekstrak mengandung alkaloid jika terjadi endapan merah jingga.^[10]

Uji saponin dilakukan dengan mendidihkan ekstrak selama 2-3 menit kemudian didinginkan dan dikocok kuat selama 2-3 menit. Ekstrak mengandung saponin apabila busa yang dihasilkan stabil.^[10]

Uji tanin dilakukan dengan menambahkan 2 tetes FeCl₃ ke ekstrak. Apabila berubah menjadi biru atau hijau, berarti ekstrak mengandung tanin.^[10]

Pengujian fitokimia dilakukan di Laboratorium Fitokimia Farmasi Udayana.

Pembuatan Krim

Krim dibuat dalam 3 dosis, yaitu 25%, 50%, dan 75% dengan komposisi basis krim yang sama. Pembuatan krim dilakukan di Laboratorium Fitokimia Farmasi Udayana.

Pengujian Krim

Pengujian krim yang dilakukan adalah uji organoleptis, uji homogenitas, dan uji pH.^[11] Pengujian krim dilakukan di Laboratorium Fitokimia Farmasi Udayana.

Perlakuan Hewan Coba

Tikus yang digunakan adalah *Rattus novvergicus strain* galur wistar, jantan dengan berat 250-350 gram, berusia 3-4 bulan, sebanyak 24 ekor. Tikus diklimatisasi selama 1-2 minggu dan diberi makan minum *ad libitum*. Sebelum diberi perlakuan, tikus diukur kadar glukosa darahnya lalu dipuaskan 16 jam. Setelah itu, tikus diinduksi menjadi diabetes dengan injeksi aloksan 150 mg/kgBB secara intraperitoneal. Setelah injeksi, tikus diberikan larutan gula 5% agar tidak hipoglikemia. Tiga hari kemudian kadar glukosa darah tikus diukur kembali. Apabila tikus belum diabetes, tikus akan diinjeksi kembali.^[7]

Langkah selanjutnya adalah membuat luka pada tikus. Pertama, bulu tikus dicukur sekitar 2x2 cm² terlebih dahulu. Kemudian, tikus diinjeksi ketamine hidroklorida dengan dosis 50 mg/kgBB secara intramuskular untuk mengurangi rasa sakit. Lalu, dibuat sayatan sampai bagian dermis.^[7]

Setelah percobaan selesai, hewan coba dieutanasia dengan menggunakan ketamine dengan dosis 150 mg/KgBB dan dilakukan *cervical dislocation*. Setelah itu, sampel kulit diambil dan dimasukkan dalam larutan formalin 10%.^[7] Perlakuan hewan coba ini dilakukan di *Animal Laboratorium Unit* Fakultas Kedokteran Udayana.

Sampel kulit ini digunakan untuk pembuatan preparat HE agar dapat mengetahui letak, persebaran, dan luas kolagen pada luka.^[12]

Analisis Data

Data yang diperoleh adalah ukuran luas luka dan luas kolagen. Luas kolagen dilihat dari preparat histologi HE yang dibaca menggunakan *ImageJ* dengan mengambil dua lapang pandang kemudian dirata-rata.

HASIL

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia

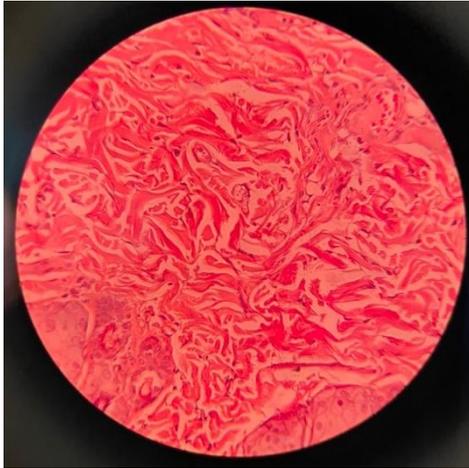
Zat	Hasil	Interpretasi
Flavonoid	Berubah warna menjadi merah magenta	+
Alkaloid	Terbentuk endapan berwarna merah jingga	+
Saponin	Terbentuk buih stabil	+
Tanin	Berubah warna menjadi hijau	+

Tabel 2. Hasil Uji Krim

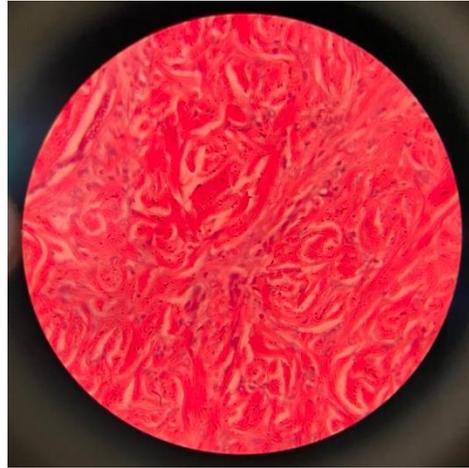
Aspek	Krim 25%	Krim 50%	Krim 75%	Basis Krim
Warna	Hijau	Hijau	Hijau	Putih
Bau	-	-	-	-
Fase	Semi solid	Semi solid	Semi solid	Semi solid
pH	4,9	4,8	5,0	4,8
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen

Tabel 3. Hasil Pengukuran Luas Luka dan Luas Kolagen

Hewan		Rerata Penutupan Luka (%)	Rerata Luas Kolagen (Pixel ²)
Kelompok	Nomor		
I	1	-	-
I	2	-	-
I	3	43,75	263814.50
I	4	36,00	246991.50
I	5	32,00	286522.00
I	6	-	-
Rata-Rata		37,25	265776.00
II	1	-	-
II	2	80,00	459205.50
II	3	-	-
II	4	-	-
II	5	69,75	405095.50
II	6	77,50	334437.50
Rata-Rata		75,75	399579.50
III	1	64,00	300523.50
III	2	64,75	285695.00
III	3	64,75	285670.50
III	4	75,25	310348.50
III	5	64,00	283468.50
III	6	67,25	224792.50
Rata-Rata		66,67	281749.75
IV	1	-	-
IV	2	58,00	243925.50
IV	3	64,75	323650.00
IV	4	69,75	250300.00
IV	5	58,00	259126.00
IV	6	58,00	279913.00
Rata-Rata		61,70	271382.90



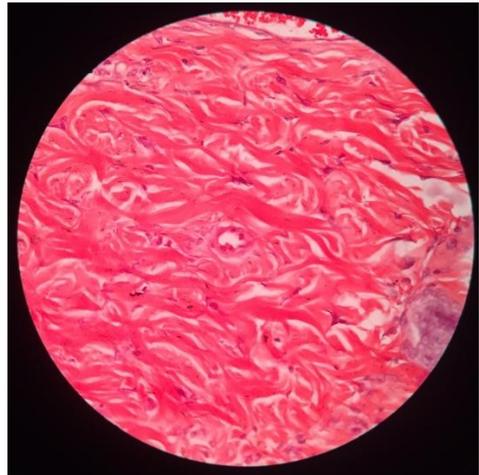
Gambar 1. Preparat HE kelompok I No 5



Gambar 2. Preparat HE kelompok II No 2



Gambar 3. Preparat HE kelompok III No 4



Gambar 4. Preparat HE kelompok IV No 3

Tabel 4. Uji Statistika Luas Luka

Kelompok Tikus	Shapiro Wilk			Kruskal Wallis	Test Statistics		
	Statistic	df	Sig.	Mean Ranks	Chi square	df	Asymp. Sig
1	.967	3	.652	2.00	11.613	3	.009
2	.920	3	.451	15.50			
3	.728	6	.012	10.33			
4	.774	5	.048	7.70			

Tabel 5. Uji LSD Luas Luka

(I) kelompok	(J) Nomor Hewan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-38,5000*	4,17107	,000	-47,5111	-29,4889
	3	-29,41667*	3,61226	,000	-37,2205	-21,6129
	4	-24,45000*	3,73072	,000	-32,5097	-16,3903
2	1	38,50000*	4,17107	,000	29,4889	47,5111
	3	9,08333*	3,61226	,026	1,2795	16,8871
	4	14,05000*	3,73072	,002	5,9903	22,1097
3	1	29,41667*	3,61226	,000	21,6129	37,2205
	2	-9,08333*	3,61226	,026	-16,8871	-1,2795
	4	4,96667	3,09335	,132	-1,7161	11,6494
4	1	24,45000*	3,73072	,000	16,3903	32,5097
	2	-14,05000*	3,73072	,002	-22,1097	-5,9903
	3	-4,96667	3,09335	,132	-11,6494	1,7161

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabel 6. Luas Kolagen

Kelompok Tikus	Shapiro Wilk			Levene Test			
	Statistic	df	Sig.	Statistics	df1	df2	Sig.
1	.993	3	.836	1.177	3	13	.356
2	.994	3	.854				
3	.804	6	.064				
4	.871	5	.269				

Tabel 7. Uji ANOVA Luas Kolagen

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	39167283099.984	3	13055761033.328	9.857	.001
Within Groups	17217871065.575	13	1324451620.429		
Total	56385154165.559	16			

Tabel 8. Uji LSD Luas Kolagen

(I) Kelom- pok	(J) Nom- or	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	133803.50000*	29714.77321	.001	197998.3647	69608.6353
	3	-15973.75000	25733.74847	.546	71568.1336	39620.6336
	4	-5606.90000	26577.70113	.836	63024.5325	51810.7325
2	1	133803.50000*	29714.77321	.001	69608.6353	197998.3647
	3	117829.75000*	25733.74847	.001	62235.3664	173424.1336
	4	128196.60000*	26577.70113	.000	70778.9675	185614.2325
3	1	15973.75000	25733.74847	.546	39620.6336	71568.1336
	2	117829.75000*	25733.74847	.001	173424.1336	62235.3664
	4	10366.85000	22037.06561	.646	37241.3358	57975.0358
4	1	5606.90000	26577.70113	.836	51810.7325	63024.5325
	2	128196.60000*	26577.70113	.000	185614.2325	70778.9675
	3	-10366.85000	22037.06561	.646	57975.0358	37241.3358

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabel 9. Perbandingan Nilai p-Value Uji Post Hoc Kelompok II Dibandingkan dengan Kelompok Lain

Kelompok	I	III	IV
II	0.001*	0.001*	0.001*

Hasil uji normalitas dari data penutupan luka menunjukkan bahwa setelah pemberian ekstrak tidak terdistribusi normal. Oleh karena itu, analisis hasil penelitian mempergunakan uji Kruskal Wallis untuk menilai perbedaan *mean rank* pada masing-masing kelompok perlakuan. Uji statistik ditemukan bahwa $H(3) = 11.61$, $p = 0.009$ yang menunjukkan bahwa secara signifikan pemberian ekstrak bunga kamboja menutupi luka pada hewan coba dengan nilai *mean rank* tertinggi ditunjukkan pada kelompok 2 dengan dosis ekstrak bunga kamboja 25%.

Hasil uji normalitas luas kolagen menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Hasil uji homogenitas juga menunjukkan data homogen. Oleh karena itu, dilakukan analisis hasil penelitian menggunakan uji Anova untuk menilai perbedaan pada masing-masing kelompok perlakuan. Hasil uji Anova menunjukkan bahwa pemberian krim ekstrak bunga kamboja 25% secara signifikan menghasilkan luas permukaan yang paling besar dengan nilai $p=0.001$. Hal ini berarti pemberian krim ekstrak bunga kamboja 25% memberikan rangsangan pembentukan kolagen pada hewan coba yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok *placebo* dan kelompok perlakuan krim dengan konsentrasi ekstrak bunga kamboja 50% dan 75%.

Pada pengujian krim, didapatkan hasil krim berwarna hijau, tidak berbau, fase semi solid, dan memiliki pH 4,8-5,0. Hasil uji krim ini memenuhi syarat krim yang baik. Syarat pH yang aman adalah pH 4,5-6,5. Pada uji homogenitas didapatkan krim dapat bercampur sempurna tanpa adanya pemisahan fase serta ekstrak dapat larut sempurna di dalam basis krim.^[13]

Pada penelitian ini, diketahui terdapat pengaruh krim ekstrak bunga kamboja terhadap penutupan luka dan pembentukan kolagen pada kulit tikus diabetes dengan ditemukannya penutupan luas luka yang signifikan dan peningkatan jumlah kolagen pada hewan coba yang diberi perlakuan dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya mengenai efek flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin pada penyembuhan luka. Bunga kamboja memiliki keempat kandungan tersebut sehingga memiliki pengaruh pada penyembuhan luka. Tanin dan saponin dapat memfasilitasi penyembuhan luka dengan bertindak sebagai antimikroba. Sedangkan, flavonoid bertindak sebagai antibakteri, antioksidan kuat yang menghilangkan radikal bebas dan mendorong aktivitas penyembuhan luka.^[7] Sebagai antibakteri flavonoid dapat mendenaturasi protein yang bisa menghambat aktifitas metabolisme sel bakteri karena seluruh aktifitas metabolisme dikatalisis. Alkaloid merupakan salah satu zat aktif yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu pembentukan komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri sehingga menyebabkan kematian sel tersebut. Kandungan alkaloid juga diyakini berperan dalam proses penguatan fibril kolagen dengan mencegah kerusakan dari sel melalui sintesis DNA yang membuat pembentukan jaringan baru pada luka menjadi lebih cepat, kuat dan padat.^[14]

Kolagen sendiri berkontribusi pada kekuatan mekanik elastisitas jaringan, substrat alami untuk perlekatan, proliferasi, dan diferensiasi seluler. Pada fase inflamasi penyembuhan luka, paparan kolagen

PEMBAHASAN

karena cedera mengaktifkan kaskade pembekuan, menghasilkan bekuan fibrin yang dapat menghentikan pendarahan awal yang selanjutnya akan mendorong proliferasi fibroblas untuk menyintesis kolagen dan ekstraseluler matriks *Remodeling* ekstraseluler matriks berperan penting untuk perkembangan vaskular dan kolagen berkontribusi pada fleksibilitas kulit selain menstabilkan faktor pertumbuhan dan mengatur adhesi sel dan sinyal antara sel dan ekstraseluler matriks.^[15]

Hasil dari penelitian ini adalah ditemukannya peningkatan kecepatan penutupan luka sekitar dua kali lebih cepat dibandingkan hewan coba tanpa perlakuan. Pada pengukuran luas luka didapatkan kelompok 2 (krim 25%) mengalami penutupan 75% sedangkan kontrol negatif hanya mengalami penutupan 37%. Namun, pada kelompok 3 dan 4 yang diberikan dosis krim lebih tinggi, hasilnya tidak menunjukkan percepatan yang lebih baik dari krim 25%. Hal ini pun sejalan dengan luas kolagen yang terbentuk pada kulit tikus. Kelompok 2 menunjukkan hasil intensitas warna merah pada presentasi sel dermis yang lebih baik dari kelompok perlakuan lain. Hal ini menunjukkan bahwa dosis 25% adalah dosis maksimal efektif untuk penyembuhan luka ulkus kaki diabetikus.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah terdapat sejumlah hewan coba yang mati. Hal ini disebabkan karena hewan coba terpapar oleh zat anestesi setiap hari. Oleh karena itu, terjadi kekurangan jumlah sampel pada beberapa kelompok perlakuan.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang kami lakukan, kami dapat menarik kesimpulan bahwa krim bunga kamboja (*Plumeria sp.*) dapat membantu penyembuhan ulkus kaki diabetikus pada tikus wistar. Konsentrasi krim bunga kamboja 25% adalah dosis yang paling efektif.

SARAN

Disarankan bagi penelitian selanjutnya untuk menggunakan dosis krim bunga kamboja 10%, 15%, 20%, dan 25% karena pada penelitian ini didapat dosis krim 25% merupakan dosis maksimal yang paling efektif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Setiati S, Alwi I, Sudoyo AW, Simadibrata M, Setiyohadi B, Syam AF. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I. 6th ed. Jakarta: Interna Publishing; 2014. 2367–2371 p.
2. Sukatemin. Kejadian ulkus kaki diabetik. Umy. 2013; pp 1-16
3. Yusuf, S., Okuwa, M., Irwan, M., Rassa, S., Laitung, B., Thalib, A., Kasim, S., Sanada, H., Nakatani, T. and Sugama, J. Prevalence and Risk Factor of Diabetic Foot Ulcers in a Regional Hospital, Eastern Indonesia. Open Journal of Nursing. 2016 (6):1-10.
4. Zahra FA. Formulasi Lotion Ekstrak Flavonoid Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Sebagai Anti Bakteri pada Luka Ulkus Diabetikum Secara Invitro. Purwokerto; 2018.
5. Paramartha K. Kamboja dalam Teks Usada [Internet]. Erepo.unud.ac.id. 2021 [cited 29

6. November 2021]. Available from: <http://erepo.unud.ac.id/id/eprint/8843/1/c8da02595c9fff0b33531d958a08d82f.pdf>
7. Syifa N, Sihdianto A, Herjuno A, Salash A. Studi Etnofarmasi Etnis Using Banyuwangi Indonesia. *Farmasains : Jurnal Farmasi dan Ilmu Kesehatan*. 2012;1(2):139-150.
8. Bihani T, Mhaske N. Evaluation of in vivo wound healing activity of *Plumeria obtusa* L. (Champa) spray in rats. *Wound Med [Internet]*. 2020;28:100176. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2019.100176>
9. Mawarti, H. and Ghofar, A. 'Aktivitas Antioksidant Flavonoid Terhadap Perubahan Histologi Proses Penyembuhan Luka Bakar Grade II', *Jurnal Eduhealth*, 2014;4(1), pp. 1–58
10. Agral O, Fatimawali, Yamlean P, Supriati HS. Formulasi dan uji kelayakan sediaan krim anti inflamasi getah tanaman patah tulang (*Euphorbia tirucalli* L). *Pharmacon J Ilm Farm*. 2013;2(03):5–7.
11. Sulistiyono FD, Sofihidayati T, Lohitasari B. Uji Aktivitas Antibakteri dan Fitokimia Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Hasil Ekstraksi Metode Microwave Assisted Extraction (MAE). *Mandala Heal*. 2018;11(2):71.
12. Pratasik MCM, Yamlean PVY, Wiyono WI. Formulasi Dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.). *Pharmacon*. 2019;8(2):261
13. Junquiera LC. *Histologi Dasar Edisi ke-8*. 8th ed. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 1998.
14. Utari KD., Unique IGANP, Aryani NW., Arisanti CI., Samirana P. Optimasi Konsentrasi Setil Alkohol Sebagai Agen Pengental Pada Formula Krim Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*). *J Farm Udayana*. 2019;7(2):40–4.
15. Poernomo H, Setiawan S. The Effect of Moringa Leaf (*Moringa Oleifera*) Gel On the Bleeding Time And Collagen Density Of Gingival Incision Wound Healingin Marmot (*Cavia porcellus*). *Interdental: Jurnal Kedokteran Gigi*. 2019 Jul 2;15(1):34-9
16. Mathew-Steiner SS, Roy S, Sen CK. Collagen in Wound Healing. *Bioengineering*. 2021 May;8(5):63.