

PENGARUH SEDIAAN SALEP EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle* Linn.) TERHADAP JUMLAH FIBROBLAS LUKA BAKAR DERAJAT IIA PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR

Umi Kalsum, Ika Setyo Rini, Aliefia Ditha,
Kusumawardhani

ABSTRAK

Pendahuluan: Luka bakar merupakan salah satu insiden yang sering terjadi di masyarakat khususnya rumah tangga dan ditemukan terbanyak adalah luka bakar derajat II. Daun sirih (*Piper betle* Linn.) adalah bahan alam yang diduga dapat membantu mempercepat proses penyembuhan luka dan mempunyai pengaruh terhadap peningkatan jumlah fibroblas karena memiliki kandungan aktif seperti saponin, flavonoid, dan tanin.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap peningkatan jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar.

Metode: Studi eksperimental menggunakan desain penelitian True-experiment pasca-tes dilakukan terhadap hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan dengan usia 2,5-3 bulan (usia pertumbuhan) dan berat badan 150-250 gram. Sampel diambil dengan teknik simple random sampling dan dibagi dalam empat kelompok yaitu kelompok (A) Ekstrak daun sirih konsentrasi 15% (n=6), (B) Ekstrak daun sirih konsentrasi 30% (n=6), (C) Ekstrak daun sirih konsentrasi 45% (n=6) dan kelompok kontrol Normal Saline 0,9% (n=6).

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah fibroblas antara kelompok yang diberi ekstrak daun sirih konsentrasi 15% ($\bar{x} = 12.95$), 30% ($\bar{x} = 10.33$), 45% ($\bar{x} = 5.90$) dan kelompok kontrol Normal Saline 0,9% ($\bar{x} = 4.61$) yaitu One Way ANOVA $p=0.000$ ($p<0.05$).

Kesimpulan: Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat pengaruh yang tinggi pada pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap peningkatan jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yaitu sebesar 77.6% dan semakin kecil konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) maka jumlah fibroblas semakin besar (Korelasi Regresi Linear $r=-0.881$) sehingga ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) konsentrasi 15% adalah konsentrasi yang paling optimal dalam mempercepat proses penyembuhan luka.

Kata kunci : Daun Sirih (*Piper Betle* Linn.), Luka Bakar Derajat IIA, Fibroblas

ABSTRACT

Introduction: Burn wound is one of the most happened incident around us especially in house hold while the II degree burn wound occur most often. Sirih leaf (*Piper betle* Linn.) is an alternative natural materials suspected to be able to accelerate wound healing process and due to its active substaces such as saponins, flavonoids, and tannins, is able to increase the number of fibroblast in burn wound.

Aim: This study is conducted to determine the influence of sirih leaf extract (*Piper betle* Linn.) in correlation to increase the number of fibroblast in IIA degree burn wound on Wistar strain rat (*Rattus norvegicus*).

Methods: Experimental study using True experiment post test design conducted into male Wistar strain rat (*Rattus norvegicus*) with age 2,5-3 months and weight 150-250 grams. The samples got by simple random sampling and divided into four groups, that is (A) 15% concentration of Sirih leaf extract group (n=6), (B) 30% concentration of Sirih leaf extract group (n=6), (C) 45% concentration of Sirih leaf extract group (n=6), and control group Normal Saline 0,9% (n=6).

Results: The result of this research indicates some significant differences in the number of fibroblast found in sirih leaf extract group 15% ($\bar{x} = 12.95$), 30% ($\bar{x} = 10.33$), 45% ($\bar{x} = 5.90$) and control group Normal Saline 0,9% ($\bar{x} = 4.61$) from One Way ANOVA test $p=0.000$ ($p<0.05$).

Conclusion: The conclusion is sirih leaf extract (*Piper betle* Linn.) has high influence to increase the number of fibroblast in IIA Degree Burn Wound on Wistar Strain Rat (*Rattus norvegicus*) that is 77.6% and more decrease concentration of sirih leaf extract then more increase the number of fibroblast (Regression Linear Correlation $r=-0.881$). So sirih leaf extract with 15% concentration is the most optimal concentration to accelerate wound healing.

Keywords : Sirih Leaf (*Piper Betle* Linn.), IIA Degree Burn Wound, Fibroblast

1. PENDAHULUAN

Luka bakar adalah luka pada kulit atau jaringan lain yang disebabkan oleh panas atau terkena radiasi, radioaktivitas, listrik, sentuhan atau kontak dengan bahan kimia. Luka bakar terjadi ketika beberapa atau semua sel pada kulit rusak karena cairan panas (air mendidih), benda panas dan nyala api. Menurut WHO pada tahun 2012, luka bakar adalah masalah kesehatan masyarakat secara global yang diperkirakan menyebabkan 195.000 kematian. Luka bakar paling banyak sekitar 84.000 kasus terjadi di negara berpenghasilan rendah dan menengah yaitu Regio WHO Asia Tenggara. Menurut National Safe Kids Campaign tahun 2004, pada tahun 2002 Departemen Kebakaran Amerika menemukan sedikitnya 401.000 kasus kebakaran tiap 79 detik dimana 76% kasus kebakaran menyebabkan luka bakar Data unit luka bakar Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo Jakarta pada Januari 1998-Mei 2001 menunjukkan penyebab luka bakar adalah 60% kecelakaan rumah tangga, 20% kecelakaan kerja dan 20% sebab lain. Luka bakar merupakan salah satu insiden yang sering terjadi di masyarakat khususnya rumah tangga dan ditemukan terbanyak adalah luka bakar derajat II.^[1]

Berdasarkan kedalamannya luka bakar dibagi menjadi 3 yaitu derajat I, derajat II, dan derajat III. Kerusakan luka bakar derajat II meliputi epidermis dan dermis.^[2] Luka bakar derajat II dibagi menjadi dua yaitu luka bakar derajat II

dangkal / IIA dan II dalam / IIB. Luka bakar derajat IIA memerlukan balutan khusus yang merangsang pembelahan dan pertumbuhan sel.^[3]

Luka bakar yang luas mempengaruhi metabolisme dan fungsi setiap sel tubuh. Semua sistem terganggu terutama sistem kardiovaskuler. Semua organ memerlukan aliran darah yang adekuat sehingga perubahan fungsi kardiovaskuler memiliki dampak luas pada daya tahan hidup dan pemulihan pasien³. Oleh karena itu luka bakar harus segera ditangani agar tidak terjadi komplikasi dan terjadi proses penyembuhan luka.^[4] Proses penyembuhan luka adalah proses biologis yang terjadi di dalam tubuh.^[5] Proses ini dapat dibagi ke dalam 4 fase utama yaitu koagulasi, inflamasi, proliferasi dan remodeling. Pada fase proliferasi fibroblas adalah elemen sintetik utama dalam proses perbaikan dan berperan dalam produksi struktur protein yang digunakan selama rekonstruksi jaringan.^[6]

Secara khusus fibroblas menghasilkan sejumlah kolagen yang banyak. Pada fase maturasi serabut kolagen menyebar dengan saling terikat dan menyatu serta berangsur-angsur menyokong pemulihan jaringan. Fibroblas biasanya akan tampak pada sekeliling luka.^[6] Proliferasi dan migrasi fibroblas memegang peranan penting dalam pembentukan jaringan granulasi dan penutupan luka.^[7] Menurut Mallon *et al.* (2006), fibroblas merupakan sel yang paling umum ditemui pada jaringan ikat

dan mensintesis beberapa komponen matriks ekstraseluler (kolagen, retikuler, elastin), beberapa makromolekul anionik (glikosaminoglikans, proteoglikans) serta glikoprotein multiadesif (laminin dan fibronektin) yang dapat mendorong perlekatan sel pada substrat.^[8] Fibroblas memperoleh fenotip khusus di bawah kontrol keratinosit yang disebut miofibroblas.^[9] Miofibroblas adalah fibroblas khusus yang mirip dengan sel otot polos dan berperan dalam penyambungan komponen ekstraseluler sel. Aktivitas sel-sel tersebut berperan pada penutupan luka akibat cedera jaringan.^[10]

Banyak tanaman tradisional di Indonesia yang bermanfaat dalam membantu penutupan luka, salah satunya yaitu daun sirih. Daun sirih (*Piper betle* Linn.) tumbuh subur di sepanjang daerah Asia tropis dan menyebar hampir di seluruh Indonesia. Daun sirih sering ditemukan pada pekarangan-pekarangan rumah di Indonesia sehingga tanaman ini mudah didapatkan tanpa mengeluarkan biaya yang mahal.^[11] Daun sirih telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional oleh nenek moyang sebagai obat kumur,^[12] menghilangkan bau badan, obat mimisan, pembersih mata yang gatal atau merah, obat koreng atau gatal-gatal, dan obat sariawan.^[13] Hasil penelitian Sari dan Isdiartuti (2006)^[12] membuktikan bahwa daun sirih dapat digunakan sebagai antiseptik. Selain itu daun sirih bermanfaat sebagai *vulnerary* yaitu menyembuhkan luka.^[12]

Daun sirih mengandung saponin, flavonoid, tanin dan minyak atsiri. Kandungan saponin, flavonoid serta tanin dapat membantu proses penyembuhan luka karena berfungsi sebagai antioksidan dan antimikroba yang mempengaruhi penyambungan luka juga mempercepat epitelisasi.^[14] Kandungan saponin dan tanin berperan dalam regenerasi jaringan dalam proses penyembuhan luka.^[15] Kandungan saponin mempunyai kemampuan sebagai pembersih atau antiseptik.^[16] Saponin dapat memicu *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan meningkatkan jumlah makrofag bermigrasi ke area luka sehingga meningkatkan produksi sitokin yang akan mengaktifkan fibroblas di jaringan luka.^[17] Kandungan flavonoid berfungsi sebagai antioksidan, antimikroba dan juga

antiinflamasi pada luka bakar.^[18] Onset nekrosis sel dikurangi oleh flavonoid dengan mengurangi lipid peroksidasi. Penghambatan lipid peroksidasi dapat meningkatkan viabilitas serat kolagen, sirkulasi darah, mencegah kerusakan sel dan meningkatkan sintesis DNA.^[15] Kandungan tanin mempunyai kemampuan astringen, antioksidan dan antibakteri.^[19] Kandungan tanin mempercepat penyembuhan luka dengan beberapa mekanisme seluler yaitu membersihkan radikal bebas dan oksigen reaktif, meningkatkan penyambungan luka serta meningkatkan pembentukan pembuluh darah kapiler juga fibroblas.^[20] Sedangkan minyak atsiri mengandung kavikol dan phenol yang berguna sebagai antimikroba, antibakteri dan disinfektan.^[19]

Salep merupakan sediaan farmasi yang sering digunakan untuk penyembuhan luka. Salep merupakan sediaan semisolid berbahan dasar lemak ditujukan untuk kulit dan mukosa. Sediaan ini digunakan karena mudah diserap oleh kulit dan dicuci dengan air. Salep digunakan untuk pengobatan lokal pada kulit, melindungi kulit pada luka agar tidak terinfeksi serta dapat melembabkan kulit.^[21]

Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa sediaan salep ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* Linn.) dapat mempercepat penyembuhan luka sayat pada mencit galur *Swiss Webster* betina. Hasil yang terbaik adalah kelompok perlakuan yang diberikan salep ekstrak daun sirih 20% secara topikal. Hasil terbaik setelah kelompok perlakuan salep ekstrak daun sirih 20% adalah *povidone iodine* 10%, ekstrak daun sirih 10% ekstrak daun sirih 30%, dan terakhir Vaseline album secara topikal (Pramana, 2009). Namun, hingga saat ini belum ada penelitian untuk menguji khasiat sediaan salep ekstrak daun sirih secara topikal terhadap penyembuhan luka bakar pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar.

Berdasarkan uraian tersebut daun sirih dapat berfungsi sebagai antiseptik, antioksidan, antimikroba, antibakteri, antiinflamasi, dan astringen sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Daun sirih juga berpotensi menstimulasi sejumlah fibroblas yang berperan penting dalam perbaikan jaringan. Manfaat daun sirih yang sangat besar dalam penyembuhan luka menjadi

alasan pentingnya dilakukan penelitian eksperimental tentang pengaruh sediaan salep ekstrak daun sirih terhadap peningkatan jumlah fibroblas pada luka bakar derajat IIA.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap peningkatan jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar.

Manfaat penelitian ini bagi profesi keperawatan adalah menjadi dasar pengetahuan untuk memahami daun sirih (*Piper betle* Linn.) berguna sebagai perawatan luka bakar derajat IIA karena dapat mempengaruhi jumlah fibroblas dan dapat menambah khasanah di bidang keperawatan luka bakar dengan terapi komplementer. Sedangkan manfaat bagi masyarakat menjadi dasar bagi untuk memanfaatkan daun sirih (*Piper betle* Linn.) untuk obat luka bakar derajat IIA dalam kehidupan sehari-hari. Manfaat bagi peneliti sendiri adalah dapat menjadi dasar pengetahuan dan pendalaman peneliti tentang pengaruh daun sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap jumlah fibroblas pada luka bakar derajat IIA serta dapat digunakan sebagai dasar dalam penelitian selanjutnya.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Desain Penelitian

Penelitian ini meru pakan penelitian *true-experiment* pasca tes dengan kelompok eksperimen dan kontrol. Sampel dipilih dengan cara *simple random sampling* berjumlah 24 ekor tikus putih jantan dengan umur 2,5-3 bulan dan berat badan 150-250 gram kemudian dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol diberi NS 0,9% dan 3 kelompok perlakuan diberi ekstrak daun sirih konsentrasi 15%, 30% dan 45%. Masing-masing kelompok berjumlah 6 ekor tikus.

2.2 Pembuatan Luka Bakar Derajat IIA

Menempelkan balok sterofoam berukuran 2x2 cm dilapisi dan dibungkus kassa yang dicelup air panas 98 °C selama 3 menit dan ditempelkan pada punggung tikus selama 30 detik yang sebelumnya dianastesi menggunakan lidokain non adrenalin berdasarkan hasil studi eksplorasi pada tanggal 17 Desember 2012 di Laboratorium

Farmakologi FKUB pada pukul 10.00-13.00 WIB.

2.3 Perawatan Luka Bakar Derajat IIA

Pada kelompok perlakuan luka dibersihkan dengan NS 0,9% kemudian diberi ekstrak daun sirih konsentrasi 15%, 30% dan 45% yang dibuat dengan mencampurkan vaseline dan ekstrak daun sirih menggunakan rumus sesuai dengan konsentrasinya dan masing-masing diberikan secara topikal sebanyak 50 mg pada area luka kemudian luka ditutup dengan kassa steril dan diplester. Sedangkan kelompok kontrol dibersihkan dengan NS 0,9% kemudian ditutup dengan kassa steril yang sudah direndam dalam NS 0,9% dan kemudian diperas. Perawatan luka dilakukan sekali setiap hari pukul 10.00-13.00 WIB hingga hari ke-14.

2.4 Pembuatan Ekstrak Daun Sirih

Proses ekstraksi menggunakan 100 gram serbuk daun sirih (*Piper betle* Linn.) kemudian direndam dengan etanol 96% hingga volume 1000 ml, dikocok selama 30 menit lalu dibiarkan selama 24 jam sampai mengendap. Ambil lapisan atas campuran etanol dengan zat aktif, masukkan dalam labu evaporasi 1 liter, isi *water bath* dengan air sampai penuh, kemudian pasang semua alat termasuk *rotary evaporator*, pemanas *water bath* (atur sampai 70-80°C) lalu sambungkan dengan aliran listrik. Biarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif. Tunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu penampung (\pm 1,5-2 jam untuk 1 labu). Hasilnya \pm 1/3 dari serbuk daun sirih. Masukkan hasil ekstrak dalam botol plastik dan simpan dalam freezer.

2.5 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih

Ekstrak daun sirih dicampurkan vaseline dengan menggunakan rumus:

$$L = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Keterangan :

L : Konsentrasi daun sirih (%)
a : Ekstrak daun sirih (mg)
b : Vaseline (mg)

Pembuatan konsentrasi ekstrak daun sirih dilakukan dengan menambahkan Vaseline sebanyak 50 mg

(berdasarkan studi eksplorasi luas luka $2 \times 2 \text{ cm}^2$) sesuai rumus di atas, sehingga didapatkan hasil sbb:

- Konsentrasi 15% : 7,5 mg ekstrak daun sirih dicampurkan dengan 50 mg vaseline.
- Konsentrasi 30% : 15 mg ekstrak daun sirih dicampurkan dengan 50 mg vaseline.
- Konsentrasi 45% : 22,5 mg ekstrak daun sirih dicampurkan dengan 50 mg vaseline.

2.6 Pembuatan Preparat Histologi Jaringan Kulit

Sebelum membuat preparat histologi jaringan kulit, sampel dimatikan terlebih dahulu dengan cara memasukkan sampel dalam stoples berisi larutan Chlor. Setelah itu dilakukan pengambilan jaringan kulit dan diproses untuk pembuatan preparat histologi jaringan kulit. Pembuatan preparat histologi jaringan kulit melalui beberapa tahap yaitu fiksasi, embedding, slicing, dan staning. Pada tahap fiksasi dilakukan perendaman jaringan kulit pada larutan formalin 10% selama 18-24 jam kemudian jaringan kulit dicuci dengan air mengalir selama 15 menit. Pada tahap embedding, jaringan kulit dimasukkan pada beberapa cairan yaitu *acetone* selama 1 jam x 4, *Xylo* selama $\frac{1}{2}$ jam x 4, *paraffin cair* selama 1 jam x 3, dan penanaman jaringan kulit pada *paraffin blok*. Selanjutnya pada tahap slicing, blok yang sudah tertanam jaringan kulit diletakkan pada balok es selama ± 15 menit kemudian blok ditempelkan pada cakram *microtome rotary* kemudian sayat jaringan kulit secara vertikal dengan ukuran 4 mikron. Sayatan jaringan kulit yang berbentuk pita diambil dengan menggunakan kuas kecil kemudian letakkan pada *water bath* yang mengandung gelatin dengan suhu 36°C . Setelah sayatan jaringan kulit merentang, sayatan diambil dengan menggunakan *object glass* dan didiamkan selama 24 jam. Pada tahap staning, *object glass* dimasukkan pada *Xylo* selama 15 menit x 3, alkohol 96% selama 15 menit x 3, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 15 menit, setelah itu *object glass* dimasukkan pada pewarna *Hematoxylin* selama 15 menit dan dicuci dengan air mengalir selama 15 menit. *Object glass* dimasukkan pada *Lithium carbonat* selama 20 detik dan dicuci dengan air mengalir

selama 15 menit. Selanjutnya *object glass* dimasukkan pada pewarna *Eosin* selama 15 menit, alkohol 96% selama 15 menit x 3 dan *xylo* selama 15 menit x 3. Tahap terakhir adalah preparat ditutup dengan menggunakan *deck glass Entellan*.

2.7 Identifikasi Fibroblas

Proses identifikasi fibroblas dilakukan setelah perawatan luka selesai. Fibroblas adalah sel yang berbentuk gelendong, memiliki inti satu atau lebih, bersifat basofilik, dan tercatat ungu pada pewarnaan *Hematoxylin Eosin* pada saat dilakukan pengamatan preparat histologi jaringan kulit menggunakan mikroskop OLYMPUS seri XC10 yang dilengkapi software OlyVIA (Viewer for Imaging Applications) dengan perbesaran 1000 kali tiap lapang pandang.

2.8 Analisa Data

Data-data yang didapat kan dari hasil penelitian selanjutnya dianalisis dengan software SPSS 17.00. Metode analisis menggunakan uji normalitas data dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* ($p > 0,05$). Uji homogenitas menggunakan test of Homogeneity of Variance ($p > 0,05$). Uji *One Way ANOVA* ($p < 0,05$) untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Uji *Post Hoc Tukey HSD* ($p < 0,05$) untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang paling signifikan di antara kelompok-kelompok uji coba. Uji Regresi Linear untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh ekstrak daun sirih terhadap jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA (Suliyono, 2010).

3. HASIL PENELITIAN

Setelah dilakukan serangkaian perlakuan percobaan dengan memberikan ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) sebagai kelompok eksperimen dan normal saline sebagai kelompok kontrol untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar maka didapatkan data dengan melakukan penghitungan jumlah fibroblas. Hasil penghitungan jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA setelah diberikan ekstrak daun sirih dan normal saline 0,9% dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil penghitungan jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA

pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) seluruh perlakuan pada Tabel 1 menunjukkan hasil yang bervariasi. Adanya pengaruh pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA ditunjukkan dari semakin rendah konsentrasi ekstrak semakin tinggi jumlah fibroblas. Kelompok kontrol menunjukkan jumlah fibroblas terendah dibandingkan kelompok perlakuan lain. Melalui data tersebut dapat disimpulkan bahwa bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) mempunyai pengaruh terhadap peningkatan jumlah fibroblas.

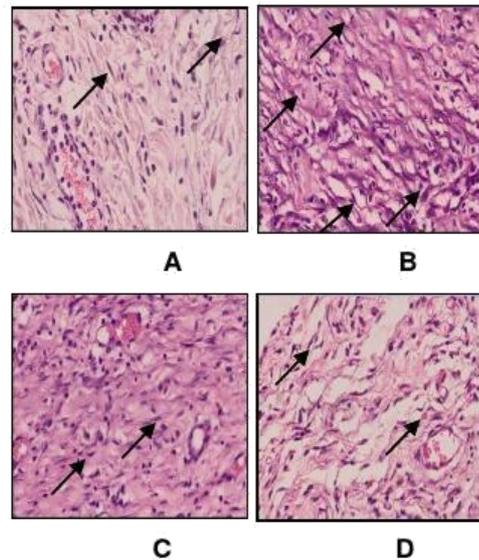
Fibroblas dapat dengan jelas dilihat pada pewarnaan hematoksilin eosin. Fibroblas biasanya tersebar sepanjang berkas serat kolagen dan tampak sebagai sel fusiform atau gelendong dengan ujung meruncing. Inti fibroblas berbentuk lonjong dan panjang yang

	C4	6.4	
	C5	5.7	
	C6	4.5	
NS 0,9%	D1	5.2	4.61
	D2	4.9	
	D3	4.7	
	D4	3.7	
	D5	3.4	
	D6	5.8	

mengandung satu atau dua nukleoli dan gumpalan kromatin halus berdekatan dengan selaput inti. Inti fibroblas tampak pucat dan terpulas gelap apabila tercat hematoksilin (basa) sehingga berwarna biru keunguan, sedangkan sitoplasma tampak relatif homogen dan bersifat basofil karena tingginya kandungan retikulum endoplasma granular.^[22]

Tabel 1. Jumlah fibroblas pada jaringan kulit yang terkena luka bakar derajat IIA pada kelompok perlakuan

Perlakuan	Kode Sampel	Rata-rata Jumlah Fibroblas Tiap Sampel	Rata-rata Jumlah Fibroblas Tiap Kelompok
EDS 15%	A1	11.9	12.95
	A2	19.1	
	A3	12.1	
	A4	11.2	
	A5	12.4	
	A6	11	
EDS 30%	B1	11.8	10.33
	B2	11.2	
	B3	8.4	
	B4	10.4	
	B5	9.8	
	B6	10.4	
EDS 45%	C1	7.5	5.90
	C2	4.6	
	C3	6.7	



Gambar 1. Fotomikroskop Jaringan Kulit yang Terkena Luka Bakar Derajat IIA per Lapang Pandang pada Seluruh Kelompok Perlakuan

Keterangan:

Tanda panah menunjukkan Fibroblas

A : Jaringan Kulit yang Terkena Luka Bakar Derajat IIA per Lapang Pandang pada Kelompok Kontrol Normal Saline 0,9% (Perbesaran 1000x).

B : Jaringan Kulit yang Terkena Luka Bakar Derajat IIA per Lapang Pandang pada Kelompok Ekstrak

- Daun Sirih Konsentrasi 15% (Perbesaran 1000x).
- C : Jaringan Kulit yang Terkena Luka Bakar Derajat IIA per Lapang Pandang pada Kelompok Ekstrak Daun Sirih Konsentrasi 30% (Perbesaran 1000x).
- D : Jaringan Kulit yang Terkena Luka Bakar Derajat IIA per Lapang Pandang pada Kelompok Ekstrak Daun Sirih Konsentrasi 45% (Perbesaran 1000x).

3.1 Analisa Data

Hasil penelitian dianalisis dengan software SPSS versi 17.00. Analisa data menggunakan beberapa uji statistik yaitu uji normalitas menggunakan statistik uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk membuktikan bahwa data berdistribusi normal, uji homogenitas menggunakan *Test of Homogeneity of Variance* untuk membuktikan bahwa data memiliki variansi yang sama atau homogen, selanjutnya *One Way ANOVA* untuk menguji perbedaan yang signifikan terhadap jumlah fibroblas antar kelompok perlakuan, kemudian uji perbandingan berganda (*Post Hoc Test*) yang digunakan untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang paling signifikan di antara kelompok perlakuan, serta dilakukan uji regresi linear untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh ekstrak daun sirih terhadap jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA.

Hasil Uji *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.774 ($p > 0.05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa jumlah fibroblas berdistribusi normal. Hasil *Test of Homogeneity of Variance* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.202 ($p > 0.05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa jumlah fibroblas pada semua kelompok perlakuan memiliki variansi yang sama (homogen). Setelah dilakukan *Test of Homogeneity of Variance* terbukti bahwa data memiliki variansi yang sama (homogen).

Hasil Uji *One Way ANOVA* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.000 ($p < 0.05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan terhadap jumlah fibroblas pada semua kelompok perlakuan. Setelah dilakukan Uji *One Way ANOVA* terbukti bahwa terdapat perbedaan yang signifikan terhadap jumlah fibroblas pada semua kelompok perlakuan sehingga perlu

dilakukan Uji Perbandingan Berganda (*Post Hoc Test*).

Hasil uji perbandingan berganda antar kelompok perlakuan menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan ekstrak daun sirih konsentrasi 15% berbeda signifikan dengan konsentrasi 45% dan kelompok kontrol normal saline 0,9% sedangkan dengan konsentrasi 30% tidak signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih konsentrasi 30% tidak kalah optimal dengan konsentrasi 15%. Konsentrasi 30% berbeda signifikan dengan konsentrasi 45% dan kelompok kontrol normal saline 0,9% namun dengan konsentrasi 15% tidak signifikan. Kelompok ekstrak daun sirih konsentrasi 45% berbeda signifikan dengan konsentrasi 15% dan 30% namun tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol normal saline 0,9%. Kelompok kontrol normal saline 0,9% berbeda signifikan dengan kelompok ekstrak daun sirih konsentrasi 15% dan 30% sedangkan dengan konsentrasi 45% tidak berbeda signifikan.

Tabel 2 menunjukkan bahwa kelompok ekstrak daun sirih konsentrasi 15% adalah yang paling optimal dibandingkan kelompok lainnya kemudian konsentrasi 30% adalah konsentrasi optimal setelah konsentrasi 15%. Kelompok ekstrak daun sirih konsentrasi 45% adalah konsentrasi optimal setelah konsentrasi 30% sedangkan kelompok kontrol normal saline 0,9% adalah kelompok optimal yang terakhir.

Analisa terakhir yang dilakukan adalah uji regresi linear. Hasil uji regresi linear menunjukkan bahwa angka korelasinya sebesar -0.881 ($r = 0.70-1.00$) yang berarti terdapat korelasi atau pengaruh yang tinggi pada pemberian

Tabel 2. Homogenous Subsets

Jenis Perlakuan	Subset for alpha = 0.05	
	1	2
NS	4.6167	
EDS 45%	5.9000	
EDS 30%		10.3333
EDS 15%		12.9500

ekstrak daun sirih terhadap jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA. Angka korelasi negatif berarti hubungan bersifat tidak searah yaitu jika konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) semakin besar maka jumlah fibroblas semakin kecil dan sebaliknya. R-square sebesar 77.6% menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih mempengaruhi jumlah fibroblas sebesar 77.6% dan sisanya dipengaruhi oleh faktor lain. Nilai signifikansi sebesar 0.000 ($p < 0.05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa model regresi layak digunakan pada penelitian ini.

3.2 Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap peningkatan jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar. Daun Sirih dipilih karena tumbuh subur dan menyebar hampir di seluruh Indonesia serta sering ditemukan pada pekarangan-pekarangan rumah di Indonesia sehingga tanaman ini mudah didapatkan tanpa mengeluarkan biaya yang mahal. Selain itu daun sirih dapat digunakan sebagai obat luka bakar. Luka bakar merupakan insiden yang sering terjadi di masyarakat khususnya rumah tangga dan ditemukan terbanyak adalah luka bakar derajat II.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih yang diekstrak dengan etanol 96% dengan metode maserasi. Etanol 96% dipilih dalam pembuatan ekstrak daun sirih karena bahan aktif yang terkandung dalam daun sirih cenderung larut terhadap etanol. Ekstrak daun sirih dibuat dalam bentuk salep dengan menambahkan vaseline. Salep merupakan sediaan semisolid berbahan dasar lemak ditujukan untuk kulit dan mukosa. Sediaan ini digunakan karena mudah diserap oleh kulit dan dicuci dengan air.

Penelitian ini menggunakan tiga konsentrasi ekstrak daun sirih yang dipilih berdasarkan studi pendahuluan. Berdasarkan studi pendahuluan tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 30% mempunyai kemampuan mempercepat penyembuhan luka yang optimal. Berdasarkan penelitian tersebut dipilih tiga konsentrasi ekstrak daun sirih yaitu 15%, 30%, dan 45% serta kelompok kontrol negatif menggunakan

Normal Saline 0,9%. Konsentrasi 15% dan 45% diberikan sebagai konsentrasi yang diambil dari setengah di atas dan di bawah konsentrasi optimal.

Fibroblas merupakan sel yang paling umum ditemui pada jaringan ikat.^[8] Fibroblas adalah sel yang menghasilkan komponen ekstrasel dari jaringan ikat yang berkembang.^[22] Fibroblas biasanya tersebar sepanjang berkas serat kolagen dan tampak sebagai sel fusiform atau gelendong dengan ujung yang meruncing. Inti fibroblas berbentuk lonjong dan panjang yang mengandung satu atau dua nukleoli dan gumpalan kromatin halus berdekatan dengan selaput inti. Fibroblas dapat dengan jelas dilihat pada pewarnaan hematoxilin eosin.^[22]

Fibroblas merupakan sel yang paling umum ditemui pada jaringan ikat.⁸ Fibroblas adalah sel yang menghasilkan komponen ekstrasel dari jaringan ikat yang berkembang.^[22] Fibroblas biasanya tersebar sepanjang berkas serat kolagen dan tampak sebagai sel fusiform atau gelendong dengan ujung yang meruncing. Inti fibroblas berbentuk lonjong dan panjang yang mengandung satu atau dua nukleoli dan gumpalan kromatin halus berdekatan dengan selaput inti. Fibroblas dapat dengan jelas dilihat pada pewarnaan hematoxilin eosin.^[22]

Data penelitian ini dianalisis menggunakan SPSS versi 17.00. Hasil uji One Way ANOVA menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat pengaruh yang signifikan pada pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap peningkatan jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Uji perbandingan berganda (Post Hoc Test) menunjukkan perbedaan yang signifikan pada pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) antara masing-masing perlakuan terhadap peningkatan jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) meskipun pada beberapa konsentrasi menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan. Hasil uji regresi linear menunjukkan bahwa angka korelasinya sebesar -0.881 ($r = 0.70-1.00$) yang berarti terdapat korelasi atau pengaruh yang tinggi pada pemberian ekstrak daun sirih terhadap jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA. R-square sebesar 77.6% menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih mempengaruhi jumlah

fibroblas sebesar 77.6%. Angka korelasi negatif berarti hubungan bersifat tidak searah yaitu jika konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) semakin kecil konsentrasi ekstrak daun sirih maka jumlah fibroblas semakin besar.

Peningkatan jumlah fibroblas ini diduga karena efek kandungan senyawa aktif yang berasal dari ekstrak etanol daun sirih. Hasil ekstraksi etanol daun sirih mengandung beberapa kandungan senyawa aktif yaitu saponin, flavonid, tannin serta minyak atsiri. Kandungan tersebut dapat membantu proses penyembuhan luka dengan mekanisme yang berbeda-beda.

Saponin merupakan steroid atau glikosida triterpenoid dan banyak terdapat pada tumbuhan yang berperan penting pada kesehatan manusia dan hewan. Saponin berfungsi sebagai antitumor, antimutagen dan aktivitas sitotoksik.^[24] Saponin dapat memicu *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan meningkatkan jumlah makrofag bermigrasi ke area luka sehingga meningkatkan produksi sitokin yang akan mengaktifkan fibroblas di jaringan luka.^[17] Saponin berpotensi membantu menyembuhkan luka dengan membentuk kolagen pertama yang mempunyai peran dalam proses penyembuhan luka.^[25]

Flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan suatu tanaman dan bisa dijumpai pada bagian daun, akar, kayu, kuit, tepung sari, bunga dan biji.^[26] Kandungan flavonoid berfungsi sebagai antioksidan, antimikroba dan juga antiinflamasi pada luka bakar.^[18] Flavonoid dapat membantu penyembuhan luka dengan meningkatkan pembentukan kolagen, menurunkan makrofag dan edema jaringan serta meningkatkan jumlah fibroblas.^[23] Nekrosis sel dikurangi oleh flavonoid dengan mengurangi lipid peroksidasi. Penghambatan lipid peroksidasi dapat meningkatkan viabilitas serat kolagen, sirkulasi darah, mencegah kerusakan sel dan meningkatkan sintesis DNA.^[15]

Tanin merupakan senyawa phenolic yang larut air. Tanin berpotensi sebagai antoksidan yang melindungi dari kerusakan oksidatif seperti kanker, arthritis dan penuaan.^[27] Kandungan tanin berguna sebagai astringen atau menghentikan perdarahan, mempercepat penyembuhan

luka dan inflamasi membran mukosa, serta regenerasi jaringan baru.^[19] Selain itu kandungan tanin mempunyai kemampuan antioksidan dan antibakteri.^[28] Kandungan tanin mempercepat penyembuhan luka dengan beberapa mekanisme seluler yaitu membersihkan radikal bebas dan oksigen reaktif, meningkatkan penutupan luka serta meningkatkan pembentukan pembuluh darah kapiler juga fibroblas.^[20]

Minyak atsiri atau disebut juga essential oil berasal dari daun, bunga, kayu, biji-bijian bahkan putik bunga. Manfaat minyak atsiri adalah sebagai obat anti nyeri, anti infeksi dan pembunuh bakteri (disinfektan).^[29] Minyak atsiri mengandung phenol dan kavikol yang berguna sebagai antimikroba, antibakteri dan disinfektan.^[19] Semua kandungan daun sirih tersebut dapat membersihkan luka dan mencegah terjadinya infeksi sehingga dapat mempercepat berakhirnya fase inflamasi pada proses penyembuhan luka.

Hasil analisis data tersebut didukung oleh data pada beberapa literatur. Salah satu penelitian dari Sari dan Isadiartuti menyebutkan bahwa daun sirih (*Piper betle* Linn.) dapat digunakan sebagai antiseptik tangan dalam bentuk gel. Daun sirih merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai antiseptik. Melalui penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa sediaan gel dengan kadar ekstrak daun sirih mulai 15% mempunyai kemampuan menurunkan mikroorganisme di telapak tangan hingga 57% sedangkan ekstrak 25% mampu menghilangkan semua mikroorgan.^[12] Kebersihan luka akan mencegah terjadinya infeksi serta mempercepat proses penyembuhan.

Penelitian sebelumnya menguji pengaruh pemberian infusa daun sirih merah (*Piper cf. fragile*, Benth) secara topikal terhadap penyembuhan luka pada tikus putih diabet. Hasil penelitian tersebut adalah pemberian infusa daun sirih merah secara topikal dengan konsentrasi 10%, 20% dan 40% memiliki efek penyembuhan luka pada tikus yang dibuat diabetes. Konsentrasi infusa daun sirih merah 40% memiliki pengaruh lebih baik terhadap peningkatan presentase penyembuhan luka dibandingkan infusa daun sirih merah 10% dan 20%.^[30]

Penelitian yang dilakukan oleh Pramana membuktikan bahwa sediaan salep yang mengandung ekstrak etanol

daun sirih (*Piper betle* Linn.) dapat mempercepat penyembuhan luka sayat pada mencit galur Swiss Webster betina. Hasil yang terbaik adalah kelompok perlakuan yang diberikan salep ekstrak daun sirih 20% secara topikal. Hasil terbaik setelah kelompok perlakuan salep ekstrak daun sirih 20% adalah *povidone iodine* 10%, ekstrak daun sirih 10% ekstrak daun sirih 30%, dan terakhir Vaseline album secara topikal.^[31]

Hasil penelitian ini menunjukkan fakta bahwa terdapat pengaruh ekstrak daun sirih dalam meningkatkan jumlah fibroblas pada luka bakar derajat IIA sehingga dapat disimpulkan bahwa hipotesis yang telah disusun adalah benar. Berdasarkan hasil penelitian pengaruh ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar dapat ditarik kesimpulan bahwa penelitian ini memiliki validitas internal yang tinggi ditandai dengan perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan berdasarkan analisis Uji One Way ANOVA. Penelitian ekstrak daun sirih ini mempunyai efek terhadap peningkatan jumlah fibroblas namun masih diperlukan uji lebih lanjut tentang farmakokinetik, farmakodinamik, toksisitas, dan efek ekstrak daun sirih ini pada hewan coba dan *clinical trial* pada manusia.

Aplikasi klinis dari penelitian ini masih memerlukan penelitian lebih lanjut mengenai standarisasi bahan aktif apa saja yang dapat digunakan. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui konsentrasi yang aman dan tepat untuk ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) agar dapat berfungsi sebagai obat luka bakar derajat IIA sehingga dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif untuk berbagai kalangan masyarakat di Indonesia.

3.2 Keterbatasan Penelitian

Dalam penelitian ini, keterbatasan yang dihadapi oleh peneliti, diantaranya yaitu:

1. Beberapa hasil fotomikroskop yang kurang jelas sehingga dalam mengidentifikasi fibroblas memerlukan ketelitian yang tinggi
2. Konsentrasi yang dipakai dalam penelitian hanya terbatas pada tiga macam konsentrasi.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa sediaan salep ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) memiliki pengaruh terhadap peningkatan jumlah fibroblas pada luka bakar derajat IIA yang dibuktikan dengan:

1. Pengaruh sediaan salep ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap peningkatan jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA yang ditandai dengan semakin rendah pemberian konsentrasi ekstrak daun sirih akan menyebabkan peningkatan jumlah fibroblas.
2. Jumlah fibroblas antar kelompok perlakuan berbeda signifikan karena tingkat keefektifan dan keoptimalan konsentrasi yang juga berbeda-beda yaitu dengan urutan kelompok perlakuan yang mempunyai hasil jumlah fibroblas terbanyak adalah ekstrak daun sirih konsentrasi 15% ($\bar{x} = 12.95$), 30% ($\bar{x} = 10.33$), 45% ($\bar{x} = 5.90$) dan terakhir Normal Saline 0,9% ($\bar{x} = 4.61$).

5. SARAN

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut terhadap uji toksisitas penggunaan ekstrak daun sirih agar pemanfaatan ekstrak daun sirih aman diaplikasikan kepada manusia.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan rentang dosis yang lebih sempit untuk mengamati *dose-effect relationship* yang lebih jelas agar pemanfaatan ekstrak daun sirih dapat diaplikasikan kepada manusia.
3. Diperlukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dalam bentuk sediaan yang lebih sederhana yaitu dekok agar lebih mudah diaplikasikan pada masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nurdiana, Hariyanto, dan Musrifah. "Perbedaan Kecepatan Penyembuhan Luka Bakar Derajat II Antara Perawatan Luka Menggunakan Virgin Coconut Oil (*Cocos nucifera*) dan Normal Salin

- pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*).” *Strain Wistar* (2008). 13 Maret 2012
 <<http://elibrary.ub.ac.id/bitstream/123456789/18039/1/Perbedaan-kecepatan-penyembuhan-luka-bakar-derajat-II-antara-perawatan-luka-menggunakan-virgin-coconut-Oil-%28Cocos-nucifera%29-dan-normal-salin-pada-tikus-putih-%28Rattus-norvegicus%29-strain-wistar.pdf>>
2. Betz, C.L. *Buku Saku Keperawatan Pediatri, Edisi 5*. Jakarta: EGC, 2009.
 3. Corwin, E.J. *Buku Saku Patofisiologi, Edisi 3*. Jakarta: EGC, 2009
 4. Morison, Moya J. *Manajemen Luka*, Jakarta: EGC, 2003.
 5. Guo, S. and DiPietro, L.A. *Factors Affecting Wound Healing*. *J Dent Res*, 2010; 89(3): 219-229.
 6. Suriadi. *Perawatan Luka*. Jakarta: Sagung Seto. 2004.
 7. Kanazawa, et al. *bFGF Regulates PI3-Kinase-Rac1-JNK Pathway and Promotes Fibroblasts Migration in Wound Healing*. *PLoS One*, 2010; 5(8).
 8. Djuwita, H., Widyaputri T., Efendi A., Kaiin E.M., dan Nurhidayat. Tingkat Pertumbuhan dan Analisa Protein Sel-Sel Fibroblas Fetal Tikus Hasil Kultur In Vitro. *Indonesian Journal of Veterinary Science & Medicine*, 2010; 1(2): 9-16.
 9. Werner, S., Krieg, T. and Smola, H. Keratinocyte-Fibroblast Interaction in Wound Healing. *Journal of Investigative Dermatology*, 2007; 127: 998-1008
 10. Porter, S. The Role of The Fibroblast in Wound Contraction and Healing. *Wounds UK*, 2007; 3(1): 33-40.
 11. Moeljanto, R. D. *Khasiat & Manfaat Daun Sirih: Obat Mujarab dari Masa ke Masa*. Jakarta : AgroMedia Pustaka ; 2003.
 12. Sari, R. dan Isadiartuti, D. Studi Efektivitas Sediaan Gel Antiseptik Tangan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* Linn.). *Majalah Farmasi Indonesia*, 2006; 17(4): 163-169.
 13. Fauzi, A. *Aneka Tanaman Obat dan Khasiatnya*, Yogyakarta: Media Pressindo; 2009.
 14. Senthil, P., Kumar, A.A., Manasa, M., Kumar, K.A., Sravanthi, K., and Deepa, D. Wound Healing Activity of Alcoholic Extract of “*Guazuma Ulmifolia*” Leaves on Albino Wistar Rats. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2011; 2(4): 34-38.
 15. Reddy, B.K., Gowda, S., and Arora, A.K. Study of Wound Healing Activity of Aqueous and Alcoholic Bark Extracts of *Acacia catechu* on Rats. *RGUHS Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2011; 1(3): 220-225.
 16. Toruan, P.L. *Fat-loss Not Weight-loss: Gemuk Tapi Ramping*. Jakarta : TransMedia Pustaka ; 2007.
 17. Kimura, Y., Sumiyoshi, M., Kawahira, K., and Sakanaka, M. Effects of Ginseng Saponins Isolated From Red Ginseng Roots on Burn Wound Healing in Mice. *British Journal of Pharmacology*, 2006; 148: 860-870.
 18. Harborne, J.B. and Williams, C.A. *Advances in Flavonoid Research Since 1992*. *Phytochemistry*, 2000, 481-504.
 19. Nafiu, Olugbemiro, Mikhail, A., Adewumi, M., Yakubu, Toyin, M. Phytochemical and Mineral Constituents of *Cochlospermum planchonii* (Hook. Ef. X Planch) Root. *Bioresearch Bulletin*. 2011; 5: 51-56.
 20. Sheikh, A.A., Sayyed, Z., Siddiqui, A.R., Pratapwar, A.S., and Sheakh, S.S. Wound Healing Activity of *Sesbania grandiflora* Linn flower Ethanolic Extract Using Excision and Incision Wound Model in Wistar Rats. *International Journal of PharmTech Research*, 2011; 3(2): 895-898.
 21. Yanhendri, S.W.Y. 2012. Berbagai Bentuk Sediaan Topikal dalam Dermatologi. *CDK-194*, 2012; 39(6): 423-430.
 22. Bloom dan Fawcet. *Buku Ajar Histologi, Edisi 12*. Jakarta : EGC ; 2002.
 23. Ambiga, Narayanan, Gowri, D., Sukumar, and Madhavan. Evaluation of Wound Healing Activity of Flavonoids from *Ipomoea carnea* Jacq. *Ancient Science of Life*, 2007; XXVI: 45-51.
 24. Wahed, R.A. Effect of Crude Saponin Extracted from Alfalfa (*Medicago Sativa* L) on Neoplastic and Normal

- Cell Lines. *Journal of Al-Nahrain University*, 2009; 12(1): 107-112.
25. Astuti, S.M, Sakinah, M., Andayani, R., dan Risch, A. Determination of Saponin Compound from *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis Plant (Binahong) to Potential Treatment for Several Diseases. *Journal of Agricultural Science*, 2011;3(4): 224-232.
 26. Sriningsih, Adji, H.W., Sumaryono, W., Wibowo, A.E., Caidir, Firdayani, Kusumaningrum, S., Kartakusuma, Pertamawati. *Analisa Senyawa Golongan Flavonoid Herba Tempuyung (Sonchus arvensis L.)*. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, 2002.
 27. Hagerman, A.E. "Tannins as Antioxidants." (2002). 31 Maret 2013 <<http://www.users.muohio.edu/hagermae/Biological%20Activities%20of%20Tannins.pdf>>
 28. Lai, H.Y., Lim, Y.Y and Kim, K.H. Potential Dermal Wound Healing Agent in *Blechnum orientale* Linn. *BioMed Central Complementary and Alternative Medicine*, 2011; 11: 62.
 29. Gunawan, W. Kualitas dan Nilai Minyak Atsiri, Implikasi pada Pengembangan Turunannya. Makalah disajikan dalam Seminar Nasional dengan tema Kimia Berisi SETS (Science, Environment, Technology, Society) Kontribusi Bagi Kemajuan Pendidikan dan Industri, Himpunan Kimia Indonesia Jawa Tengah, Semarang, 21 Maret 2009 ; 2009.
 30. Mun'im, A., Azizahwati, Fimani, A. Pengaruh Pemberian Infusa Daun Sirih Merah (*Piper cf. fragile*, Benth) Secara Topikal Terhadap Penyembuhan Luka Pada Tikus Putih Diabet,; 2010. (Online), <<http://herbalnet.healthrepository.org/bitstream/123456789/2547/1/WOUND%20HLAING%20OF%20SIRIH%20MERAHrev01.pdf>>
 31. Pramana, K.A. Efek Sediaan Salep Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* Linn.) dalam Mempercepat Penyembuhan Luka pada Mencit Galur Swiss Webster Betina. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan. Abstrak. Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha, Bandung; 2009.

