

Efektivitas Nanoemulgel Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) 5% Terhadap Jumlah Fibroblas Pada Proses Penyembuhan Ulkus Traumatikus (Kajian pada Tikus Wistar)

¹Morin Nurul Hidayah, ²Anggun Feranisa*, dan ³Linda Septiana

¹ Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Islam Sultan Agung

² Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Islam Sultan Agung

³ Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Islam Sultan Agung

*Corresponding Author:

anggun.feranisa@unissula.ac.id

Abstrak

*Ulkus traumatikus merupakan lesi ulseratif mukosa rongga mulut yang disebabkan oleh trauma mekanik, kimiawi, atau termal. Terapi ulkus bertujuan mengurangi rasa sakit dan mempercepat penyembuhan. Alga merah (*Eucheuma cottonii*) menjadi alternatif karena mengandung flavonoid dan tanin yang dapat mempercepat penyembuhan ulkus. Sediaan nanoemulgel mempunyai kelebihan dalam menyalurkan bahan aktif. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efektivitas nanoemulgel ekstrak *Eucheuma cottonii* 5% terhadap jumlah fibroblas pada proses penyembuhan ulkus traumatikus. Metode penelitian ini adalah eksperimental laboratoris rancangan post test only control group design, terdiri dari empat kelompok perlakuan yaitu nanoemulgel ekstrak *Eucheuma cottonii* 5% (P1), gel ekstrak *Eucheuma cottonii* 5% (P2), asam hialuronat (K+), dan basis gel (K-). Sampel sebanyak 24 ekor *Rattus norvegicus* dilakukan perlakuan pada mukosa labial bawah menggunakan ujung burniser yang dipanaskan. Jaringan mukosa labial tikus dibuat preparat histologi pada hari ke-5 dan dihitung jumlah fibroblas. Hasil data dianalisa dengan uji one-way anova dan post hoc LSD. Hasil rerata jumlah fibroblas hari ke-5 masing-masing kelompok P1, P2, K+, K- adalah 48,83, 43,17, 45,50, 36,00. Hasil uji one-way anova didapatkan nilai signifikansi 0,000 (<0,005), artinya terdapat perbedaan rerata jumlah fibroblas yang bermakna antar kelompok. Uji post hoc LSD semua kelompok menunjukkan nilai signifikansi <0,05 menandakan terdapat perbedaan bermakna rerata jumlah fibroblas antara satu kelompok dengan kelompok lain. Kesimpulannya adalah nanoemulgel ekstrak *Eucheuma cottonii* 5% paling berpengaruh efektif terhadap peningkatan fibroblas hari ke-5 proses penyembuhan ulkus traumatikus dibandingkan dengan gel ekstrak *Eucheuma cottonii* 5%, asam hialuronat, dan basis gel.*

Kata kunci: *Ulkus traumatikus, ekstrak *Eucheuma cottonii*, nanoemulgel, fibroblas*

Abstract

Traumatic ulcer is an oral mucosa ulcerative lesion caused by mechanic, chemical, or thermal trauma. Treatment for this ulcus are reduce the pain and increase healing process. Red algae (Eucheuma cottonii) becomes alternative because it contains flavonoid and tanin that can heal ulcers. This research aims to know the effectivity of Eucheuma cottonii nanoemulgel extract 5% on the fibroblast numbers in traumatic ulcer healing process. Experimental study was held using post test only control group design. There were four groups: Eucheuma cottonii nanoemulgel extract 5% (P1), Eucheuma cottonii gel extract 5% (P2), hyaluronic acid (K+), and gel base (K-). About 24 samples Rattus norvergicus were injured on lower labial mucosa using the tip of burnisher which had been heated. Their oral mucosa were made as hystological slide and calculated their fibroblast. Data was analyzed by using one-way anova and post hoc LSD test. The mean number of fibroblast on fifth day in sequences P1, P2, K+, K- were 48.83, 43.17, 45.50, and 36.00. Based on one-way anova test, it showed the significant result 0.000 (<0.005). This means that there is a significant the difference in the mean number of fibroblast between groups. The post hoc LSD test of all groups showed a significance value of <0.05, indicating that there was a significant difference in the mean number of fibroblast between one group and another. It can be concluded that 5% Eucheuma cottonii extract nanoemulgel had the most effective effect on increasing the fibroblast on day 5 of the traumatic ulcer healing process compared to 5% Eucheuma cottonii extract gel, hyaluronic acid, and gel base.

Key words: *traumatic ulcer, Eucheuma cottonii extract, nanoemulgel, fibroblast*

1. PENDAHULUAN

Ulkus biasa disebut dengan istilah sariawan oleh masyarakat awam. Ulkus traumatikus merupakan kondisi lesi berupa hilangnya lapisan epitel mencapai membran basal dan terkadang sampai mengenai lamina propia akibat trauma (Pramono *et al.*, 2017). Rata-rata prevalensi terjadinya ulkus sekitar 15-30% dengan angka insidensinya lebih banyak pada wanita umur 16-25 tahun dan relatif sedikit pada umur lebih dari 55 tahun (Sunarjo *et al.*, 2015). Etiologi ulkus traumatikus disebabkan oleh trauma mekanik, kimiawi, maupun termal. Lesi ini biasanya terjadi pada mukosa labial, mukosa bukal, maupun lateral lidah (Anindita *et al.*, 2013). Karakteristik ulkus yaitu lesi tunggal, warna dasar lesi merah, putih, atau kuning dengan halo eritematous. Ukuran dan bentuknya bermacam-macam mulai dari bulat/oval, cekung, dan ada juga yang tidak beraturan (Lewis dan Lamey, 2012).

Steroid topikal merupakan salah satu terapi ampuh dalam menyembuhkan ulkus. Jenis steroid topikal yang biasa digunakan salah satunya ialah asam hialuronat. Asam hialuronat termasuk jenis polimer linear asam glukoronik dan N-asetilglukosamin disakarida yang berfungsi sebagai antiinflamasi, tetapi dalam penggunaannya dapat menyebabkan reaksi alergi bagi beberapa orang (Amtha *et al.*, 2017). Oleh karena itu, dibutuhkan bahan alternatif lain dalam pengobatan ulkus yaitu salah satunya dengan pemberian obat herbal yang memiliki banyak manfaat. Salah satu jenis tanaman herbal yang tersedia cukup banyak di Indonesia khususnya di Pantai Jumiang Madura adalah *Eucheuma cottonii* (Chew *et al.*, 2018). *Eucheuma cottonii* termasuk ke dalam kelas alga merah (*Rhodophyceae*) memiliki kandungan senyawa fenol, khususnya flavonoid dan tanin. Flavonoid berfungsi untuk merangsang produksi TGF- β (*Transforming Growth Factor β*) sehingga dapat mempercepat proliferasi fibroblas ke daerah luka (Pramono *et al.*, 2017). Tanin berfungsi untuk menghentikan eksudat, perdarahan ringan, serta membantu penutupan luka lebih cepat (Putri *et al.*, 2017). Pada penelitian sebelumnya, gel ekstrak etanol *Eucheuma cottonii* 5% terbukti efektif dalam penyembuhan luka bakar (Chew *et al.*, 2018). Sediaan nanoemulgel terbentuk dari gabungan antara nanoemulsi dan hidrogel. Nanoemulgel menyempurnakan keterbatasan emulsi yang memiliki daya sebar dan viskositas rendah dalam menghantarkan zat aktif. Ukuran droplet berukuran nano membuat nanoemulgel mudah berpenetrasi dalam kulit maupun mukosa (Eid *et al.*, 2014).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk meneliti pengaruh nanoemulgel ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) terhadap jumlah fibroblas pada proses penyembuhan ulkus traumatikus dengan uji coba pada tikus wistar.

2. METODE

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan *post tes only control group design* dilakukan pada 4 kelompok yang dipilih secara acak. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro untuk pembuatan nanoemulgel ekstrak *Eucheuma cottonii* serta uji kandungan flavonoid dan tanin, Laboratorium Pengujian Obat dan Makanan (LPOMK) Universitas Islam Indonesia untuk menguji ukuran partikel, dan Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang untuk penelitian tikus. Penelitian ini telah mendapatkan *ethical clearance* dari komisi etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung nomor 271/B.1-KEPK/SA-FKG/II/2021. Sampel yang digunakan sesuai perhitungan WHO yaitu 5 ditambah

cadangan 1 tiap kelompok apabila terjadi *droupout*, jadi total 24 tikus wistar dengan kriteria berjenis kelamin jantan, usia 2-3 bulan, berat badan 200-250 gram, tidak ada abnormalitas maupun infeksi pada rongga mulut.

Alat yang digunakan untuk pembuatan nanoemulgel ekstrak alga merah, uji flavonoid serta tanin adalah blender, kertas saring, wadah tertutup, *rotary evaporator*, labu ukur, gelas kimia, *magnetic stirrer*, dan mortar. Alat yang dibutuhkan untuk uji partikel adalah Particle Size Analyzer merek Horiba SZ-100. Alat yang dibutuhkan dalam pembuatan ulkus di antaranya spuit, ketamine, *burnisher*, dan pembakar bunsen. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga merah (*Eucheuma cottonii*) yang diperoleh dari Pantai Jumiang Madura, etanol 96%, palm oil, propilen glikol, tween 80, akuades, HPMC 4000, gliserin, nipagin, nipasol, serbuk Mg, HCl pekat, dan FeCl₃.

Alga merah (*Eucheuma cottonii*) dilakukan esktraksi metode maserasi selama 3 hari dengan pelarut etanol 96% di wadah tertutup dan hasil filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga menjadi ekstrak kental, kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 5%. Untuk membentuk fase minyak, ekstrak alga merah 5% dicampur dengan palm oil dan propilen glikol kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Pembuatan fase air menggunakan tween 80, etanol dan akuades dicampurkan menggunakan *magnetic stirrer*. Fase minyak dimasukkan ke dalam fase air (o/w). Nanoemulsi ekstrak alga merah dilakukan *Particle Size Analyzer* (PSA) untuk menguji ukuran partikel. Bahan basis gel menggunakan HPMC 4000, akuades, gliserin, nipagin, dan nipasol yang dihomogenkan. Nanoemulsi ekstrak dicampurkan basis gel untuk membentuk sediaan nanoemulgel ekstrak alga merah 5%. Ekstrak dicampurkan basis gel untuk membentuk sediaan gel ekstrak alga merah 5%. Kemudian 24 tikus yang sudah diadaptasi dibagi menjadi 4 kelompok secara acak. Kelompok 1 (P1) diberi perlakuan nanoemulgel ekstrak alga merah 5%, kelompok 2 (P2) diberikan perlakuan gel ekstrak alga merah 5%, kelompok 3 (K+) diberikan asam hialuronat merek *gengigel*, dan kelompok 4 (K-) diberikan basis gel. Uji fitokimia flavonoid menggunakan sediaan yang ditambah serbuk Mg dan HCl pekat, jika warna berubah menjadi kuning, jingga, sampai merah menandakan positif flavonoid. Uji tanin dengan penambahan FeCl₃ jika warna berubah menjadi kehitaman menandakan positif tanin. Pembuatan ulkus pada tikus menggunakan ujung *burnisher* yang sudah dipanaskan, diawali dengan anestesi ketamin pada mukosa labial bawah. Dibiarkan selama 24 jam sampai lesi ulser terbentuk, selanjutnya ulkus traumatikus diberi perlakuan 1 kali sehari di waktu yang sama sebanyak 0,5 mg tiap aplikasi. Tikus didekapitasi pada hari ke-5, bagian mukosa yang terdapat ulkus dipotong dan dimasukkan ke larutan formalin 10% untuk selanjutnya dilakukan proses pembuatan preparat. Preparat diamati di bawah mikroskop perbesaran 400x dan dihitung jumlah fibroblas. Penelitian ini menggunakan skala rasio dan data hasil penelitian di atas dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Jika normal dan homogen akan dilakukan uji parametrik *One-way Anova* dan uji lanjutan *Post hoc* berupa LSD.

3. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil rerata jumlah fibroblas pada hari ke-5 proses penyembuhan ulkus traumatikus dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rerata Fibroblas

Kelompok	Mean	Standar Deviasi
P1	48,83	1,472
P2	43,17	0,753
K+	45,50	1,643
K-	36,00	1,265

Tabel 1 menunjukkan bahwa kelompok P1 dengan pemberian nanoemulgel ekstrak *E.cottonii* memiliki tingkat efektivitas lebih baik dalam penyembuhan ulkus traumatikus dibuktikan dengan hasil rerata fibroblas tertinggi yaitu 48,83.

Tabel 2. Uji Normalitas

<i>Shapiro-wilk</i>	Signifikansi
P1	0,804
P2	0,212
K+	0,752
K-	0,110

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui data tersebut memiliki sebaran normal atau tidak dengan menggunakan *Shapiro-wilk* (sampel <50). Data dikategorikan normal jika nilai signifikansi > 0,05 ($p > 0,05$). Tabel 2 menunjukkan nilai signifikansi P1, P2, K+ dan K- mempunyai distribusi normal karena nilai $p > 0,05$.

Tabel 3. Uji Homogenitas

<i>Niai Lavene Test</i>	Signifikansi
P1	
P2	
K+	0,454
K-	

Hasil uji homogenitas pada Tabel 3 menunjukkan nilai signifikansi 0,454. Hal ini menandakan bahwa data tersebut homogen ($p > 0,05$). Oleh karena itu, syarat melakukan uji *One-way Anova* dapat terpenuhi.

Tabel 4. Hasil Uji *One-way Anova*

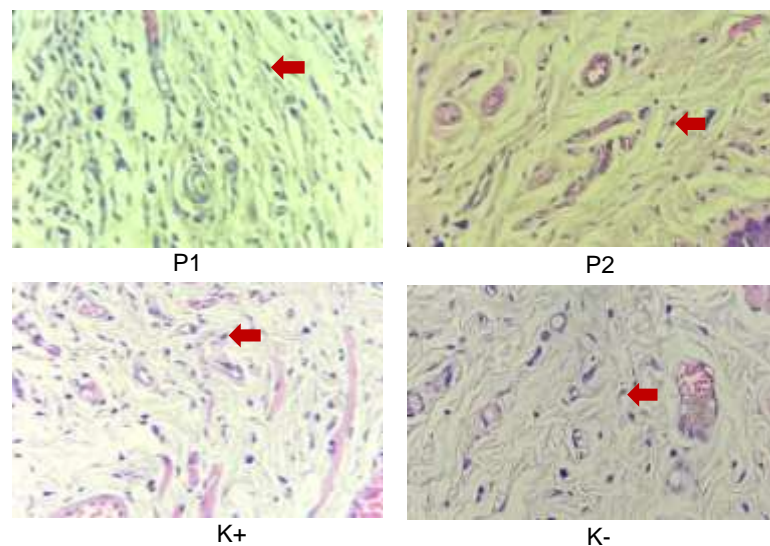
<i>Niai Lavene Test</i>	Signifikansi
P1	
P2	
K+	0,000
K-	

Hasil uji *One-way Anova* pada Tabel 4 menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) artinya terdapat perbedaan bermakna rerata jumlah fibroblas pada masing-masing kelompok perlakuan. Selanjutnya dilakukan uji *post hoc* menggunakan LSD.

Tabel 5. Hasil Uji *Post-hoc*

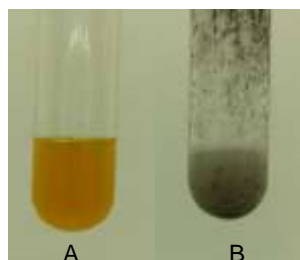
Kelompok	Kelompok	Signifikansi
P1	P2	0,000
	K+	0,002
	K-	0,000
P2	K+	0,038
	K-	0,000
K+	K-	0,000

Berdasarkan Tabel 5 dari hasil uji *Post hoc* didapatkan nilai signifikansi masing-masing kelompok $p < 0,05$ menandakan bahwa antara kelompok satu dengan kelompok perlakuan yang lain terdapat perbedaan bermakna.



Gambar 1. Gambaran Histologis pada Mikroskop Perbesaran 400x

Gambar 1 menunjukkan bahwa jumlah fibroblas paling banyak pada kelompok P1 yaitu pemberian nanoemulgel ekstrak *E. cottonii*.



Gambar 2. Hasil Uji Flavonoid dan Tanin

Gambar 2 menunjukkan bahwa sediaan tersebut positif mengandung senyawa flavonoid (gambar A) dan tanin (gambar B).

Hasil penelitian membuktikan bahwa jumlah sel fibroblas paska 5 hari perlakuan didapatkan rata-rata 48,83 untuk kelompok pemberian nanoemulgel ekstrak alga merah (P1). Formulasi nanoemulgel memiliki keunggulan stabilitas dan adhesi baik, daya larut tinggi sehingga dapat membantu peningkatan penetrasi obat (Jivani *et al.*, 2018). Ukuran droplet yang berukuran kecil berkisar $\pm 20-200$ nm juga ikut memudahkan nanoemulgel berpenetrasi ke dalam kulit maupun mukosa (Eid *et al.*, 2014). Pada penelitian ini, uji *Particle Size Analyzer* (PSA) menunjukkan hasil pengukuran rerata ukuran partikel 24,3 nm. Hal itu membuat kandungan senyawa aktif mudah berpenetrasi ke dalam mukosa sehingga penyembuhan juga semakin cepat dibuktikan dengan tingginya jumlah fibroblas pada kelompok nanoemulgel ekstrak alga merah. Rerata fibroblas tertinggi kedua sebesar 45, 50 pada kelompok K+ yaitu asam hialuronat. Asam hialuronat termasuk komponen matrik ekstraseluler yang bekerja dengan cara mempercepat proses migrasi sel fibroblas dan mitosis epitel (Pramono *et al.*, 2017). Rerata fibroblas selanjutnya yaitu 43,17 untuk kelompok gel ekstrak alga merah (P2). Kelompok asam hialuronat (K+) lebih tinggi dari kelompok gel ekstrak alga merah (P2) dikarenakan asam hialuronat juga diproduksi alami oleh fibroblas saat terjadi proses perbaikan jaringan. Oleh karena itu, proses penyembuhan luka menjadi cepat saat diberi perlakuan tambahan asam hialuronat dari luar yang sudah dimurnikan (Morsy *et al.*, 2019). Di sisi lain kemungkinan dikarenakan ekstrak alga merah yang digunakan masih berupa ekstrak kasar (*crude extract*) sehingga mempengaruhi jumlah kandungan aktif yang ada di dalamnya. Rerata fibroblas sebesar 36,00 didapatkan oleh kelompok K- yaitu pemberian basis gel. Basis gel mempunyai beberapa kelebihan untuk pengobatan luka yaitu memiliki daya serap yang baik terhadap eksudat luka serta kemampuan stabilitas baik (Mendrofa *et al.*, 2015). Pada penelitian ini basis gel tidak diberikan ekstrak atau kandungan senyawa aktif apapun, sehingga memiliki hasil terendah dibandingkan dengan tiga kelompok perlakuan yang lain. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya tentang efek penyembuhan yang signifikan pada tikus yang diberi perlakuan dalam bentuk sediaan nanoemulgel dibandingkan dengan gel ataupun emulgel karena sifatnya lebih stabil dan mempunyai partikel yang berukuran kecil (Purnama *et al.*, 2013).

Alga merah (*Eucheuma cottonii*) memiliki kandungan antara lain flavonoid dan tanin. Cara kerja flavonoid yaitu menjaga permeabilitas pembuluh darah dalam kondisi patologis, menghambat akumulasi leukosit di daerah inflamasi, dan merangsang produksi TGF- β yang mampu mempercepat proliferasi fibroblas ke daerah luka (Pramono *et al.*, 2017). Hasil uji fitokimia flavonoid pada penelitian ini menghasilkan perubahan warna jingga sehingga menandakan positif mengandung flavonoid. Tanin berperan membantu mempercepat penutupan luka, menghentikan eksudat dan mencegah perdarahan ringan pada luka (Putri *et al.*, 2017). Hasil uji fitokimia tanin pada penelitian ini menghasilkan perubahan warna kehitaman sehingga menandakan positif mengandung tanin. Kedua senyawa tersebut sangat menguntungkan dalam proses penyembuhan ulkus traumatikus. Proses ini ditandai dari banyaknya jumlah fibroblas yang menyebar di daerah ulkus. Fibroblas berperan penting dalam mensintesis kolagen dan proses re-epitelisasi yang akan membuat luka tertutup. Proses penyembuhan ulkus ditemukan lebih efektif pada kelompok nanoemulgel ekstrak alga merah karena kandungan kimia yang terdapat di dalamnya lebih kompleks dan bentuk sediaan yang digunakan lebih cepat menghantarkan zat aktif.

Penelitian ini memiliki kendala saat prosedur pembuatan ulkus yaitu adanya beberapa ulkus yang terlalu melebar sehingga membutuhkan ketelitian saat melakukan prosedur tersebut. Pada penelitian ini juga perlu dilakukan uji toksisitas nanoemulgel ekstrak alga merah agar dapat digunakan sebagai obat alternatif penyembuhan ulkus traumatikus.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa nanoemulgel ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) 5% berpengaruh paling efektif terhadap peningkatan jumlah sel fibroblas pada hari ke-5 proses penyembuhan ulkus traumatikus dibandingkan dengan gel ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) 5%, asam hialuronat, dan basis gel.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih peneliti ucapkan kepada komisi etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung, asisten Laboratorium Pengujian Obat dan Makanan (LPOMK) Universitas Islam Indonesia, asisten Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro, asisten Laboratorium Biologi Universitas Semarang, dan dr. Sumarno, Msi. Med, SpPA selaku dokter pembaca di Laboratorium Patologi Anatomi RSI Sultan Agung Semarang yang telah memberikan bantuan dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Amtha, R., Marcia, M., & Aninda, A. I. (2017). Plester sariawan efektif dalam mempercepat penyembuhan stomatitis aftosa rekuren dan ulkus traumatikus. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, Vol.3(2), pp. 69. <https://doi.org/10.22146/majkedgiind.22097>
- Anindita, P. S., Hutagalung, B., & Manoppo, S. K. P. (2013). Gambaran Ulkus Traumatik pada Mahasiswa Pengguna Alat Ortodontik Cekat di Program Studi Kedokteran Gigi. *Jurnal E-Gigi*, pp. 1–9.
- Chew, W. Z., Tan, E. L. Y., & Teo, B. S. X. (2018). In vivo evaluation of topical marine gel from ethanolic extract of *eucheuma cottonii* for burn wound healing activity on healthy mice. *International Journal of Medical Toxicology and Legal Medicine*, Vol.21(3–4), pp. 23–26. <https://doi.org/10.5958/0974-4614.2018.00020.7>
- Eid, A. M., El-enhsasy, H. A., Aziz, R., & Elmarzugi, N. A. (2014). Preparation, Characterization and Anti-Inflammatory Activity of *Swietenia macrophylla* Nanoemulgel. *Journal Nanomedicine & Nanotechnology*, Vol.5(2). <https://doi.org/10.4172/2157-7439.1000190>
- Jivani, M. M., Patel, C. P., & Prajapati, B. G. (2018). Nanoemulgel Innovative Approach for Topical Gel Based Formulation. *Research and Reviews on Healthcare: Open Access Journal*, Vol.1(2). <https://doi.org/10.32474/rrhoaj.2018.01.000107>
- Lewis, M., & Lamey, P. (2012). *Tinjauan Klinis Penyakit Mulut*. Jakarta: Widya Medika.
- Mendrofa, A. N., S, I. K., & Mulawarmanti, D. (2015). Ekstrak Daun Mangrove (*A. marina*) Mempercepat Kesembuhan Ulkus Traumatikus. *Dentofasial Journal*, Vol.14(1), pp. 11–14.
- Morsy, M. A., Abdel-latif, R. G., Nair, A. B., & Venugopala, K. N. (2019). Preparation and Evaluation of Atorvastatin-Loaded Nanoemulgel on Wound-Healing Efficacy. *Journal Pharmaceutics*, pp. 1–15. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11110609>
- Pramono, A., et al. (2017). Efektivitas Pemberian Ekstrak Gel Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* Linn) terhadap Kesembuhan Ulkus Traumatikus Studi In Vivo terhadap mukosa

Tikus (Strain Wistar). *Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Fakultas Kedokteran Gigi Unimus*. Semarang, 30 September 2017. Semarang: Unimus, pp. 39–44

Purnama, H., Sriwidodo, & Ratnawulan, S. (2013). Review Sistematis: Proses Penyembuhan Dan Perawatan Luka. *Jurnal Farmaka*, Vol.4 pp. 1–15.

Putri, F.H, R., & R., S. (2017). Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) terhadap Jumlah Fibroblas pada Penyembuhan Luka di Mukosa oral. *Journal Caninus Dentistry*, Vol.2(1) pp. 20–30.

Sunarjo, L., Hendari, R., & Rimbyastuti, H. (2015). Manfaat Xanthone Terhadap Kesembuhan Ulkus Rongga Mulut Dilihat Dari Jumlah Sel Pmn Dan Fibroblast. *Odonto Dental Journal*, Vol.2(2) pp. 14–21.