

Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis Terhadap Penyembuhan Luka Sayat Kelinci

Effectiveness Test of Lime Leaf Ethanol Extract in Incision Wound Healing

Muryanto ^{1*}, Wirasti ², Slamet³

^{1,2,3} Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan, Pekalongan-Indonesia

Abstract—Since years ago, our society has applied lime leaves for wound treatment. It is commonly known this leave contains flavonoids, glycosides, saponins, and tannins. This study aims to find out the effectiveness of lime leaf ethanol extract (*Citrus Aurantifolia* Christm Swingle) in incision wound healing on New Zealand rabbit. The method use in this study is by making an incision on the rabbit's back with a length of 2cm, a width of 0,5cm, and a depth of 0,2cm. 15 rabbits were taken as the sample. It classified into 5 groups, and each contains 3 rabbits. Each group has been treated by giving an extract and smeared on the wound made. Group 1 has been smeared an extract with concentration 20%b/v, group 2 with 40%b/v concentration, group 3 with 80%b/vconcentration, group 4 with apositive control using povidon iodine, and group 5 has been treated as a negative control. Data which was taken of this study is the length reduction of the incision on the rabbit's back. The result showed the cut on the rabbit's back decreased the length of the wound after giving the extract. Among three concentration 20%, 40%, 80%, it showed the concentration 40% which has the best effectiveness and a positive control as well.

Keywords: *Ehanol extrac, lime leaves, incision wound, New Zaeland rabbit*

Abstrak— Masyarakat secara turun temurun menggunakan daun Jeruk Nipis untuk pengobatan luka. Daun jeruk nipis diketahui mengandung, *flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan pembuatan luka sayat pada punggung kelinci New Zealand White dengan panjang 2cm, lebar 0,5 cm dan kedalaman 0,2cm, Jumlah 15 ekor hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok setiap kelompok terdiri dari 3 ekor kelinci, setiap kelompok diberi perlakuan berupa ekstrak yang dioleskan pada luka yang dibuat, kelompok 1 dioleskan ekstrak dengan konsentrasi 20% b/v, kelompok 2 dioleskan ekstrak dengan konsentrasi 40% b/v, kelompok 3 dioleskan ekstrak dengan konsentrasi 80% b/v, kelompok 4 kontrol positif menggunakan povidon iodine, kelompok 5 perlakuan sebagai kontrol negatif. Hasil penelitian menunjukkan luka sayat pada punggung kelinci mengalami penurunan panjang luka setelah pemberian ekstrak. Dari ketiga konsentrasi tersebut konsentrasi 20%, 40%, 80% menunjukkan bahwa konsentrasi 40% yang paling bagus memiliki efektifitas yang sama dengan kontrol positif.

Kata kunci : *Daun Jeruk Nipis, Ekstrak Etanol, Kelinci New Zaeland White Luka Sayat*

PENDAHULUAN

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle) adalah jenis tumbuhan perdu yang banyak tumbuh di Indonesia. Daun jeruk nipis memiliki kandungan *flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin*. Turunan senyawa *tanin* yang terkandung dalam daun jeruk nipis adalah *proanthocyanidin* zat yang berkhasiat sebagai anti bakteri dan pengering luka (Nweke, 2015).

Luka adalah kerusakan fisik akibat dari terbukanya atau hancurnya kulit yang mengakibatkan ketidak seimbangan fungsi dan anatomi kulit normal (Nagori, 2011). Luka juga didefinisikan sebagai keadaan hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh yang dapat di sebabkan trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, sengatan listrik atau gigitan hewan (Sjamsuhidayat & Win, 2004)

Masyarakat Indonesia sering menggunakan obat tradisional untuk mengobati penyakit yang timbul pada tubuh, Penggunaan obat tradisional secara umum di nilai lebih aman dari pada penggunaan obat sintetik. Hal ini disebabkan karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif rendah dibandingkan dengan obat sintetik, termasuk digunakan dalam membantu mempercepat penyembuhan luka sayat menggunakan daun jeruk nipis.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun jeruk nipis dalam pengecilan panjang luka sayat dan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun jeruk nipis yang

paling efektif dalam penyembuhan luka sayat. Manfaat penelitian ini yaitu dapat memberikan informasi bahwa ekstrak etanol daun jeruk nipis bisa dijadikan alternatif alami sebagai obat luka sayat, khususnya infeksi yang disebabkan karena bakteri dan dapat memberikan peran dalam pengembangan ilmu pengetahuan terkait dengan produk bahan herbal.

Penelitian mengenai bahan alam yang digunakan untuk membantu penyembuhan luka sayat pernah dilakukan. Sewta, dkk (2015) melakukan penelitian secara eksperimental menggunakan sampel daun lidah buaya dan objek kelinci. Hasilnya yaitu terdapat efek penyembuhan luka sayat pada kulit kelinci. Pariyana (2016) menggunakan ekstrak daun binahong dan memberikan hasil bahwa ekstrak daun binahong mempunyai efek yang sama dengan salep terhadap ketebalan jaringan granulasi dan jarak tepi luka pada luka sayat tikus putih (*Rattus norvegicus*). Sella Ade Putri., dkk (2015) menggunakan ekstrak etanol daun cocor bebek dan memberikan hasil bahwa terdapat efek dalam mempercepat penyembuhan luka sayat pada tikus putih. Berbagai tanaman herbal tersebut terbukti memiliki efektivitas penyembuhan luka. Ekstrak etanol daun jeruk nipis mengandung senyawa yang sama dengan beberapa sampel tersebut, seperti saponin, flavonoid tanin dan alkaloid. Maka, dapat dimungkinkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk nipis memiliki efek penyembuhan luka sayat pada kelinci.

METODE

Identifikasi Variable

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi dosis ekstrak etanol daun jeruk nipis. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah panjang luka yang di buat dan kedalaman luka dengan parameter pengecilan panjang luka setelah diberi ekstrak etanol daun jeruk nipis. Sementara variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah jenis tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*(Christm) Swingle) usia hewan uji, jenis kelinci, bobot hewan uji, panjang luka sayat dan kedalaman luka.

Subjek Penelitian

Kelinci jantan jenis *New Zealand white* dalam kondisi yang sehat dan mempunyai berat badan berkisar 1,5 kg sampai 2 kg dengan jumlah 12 ekor. Digunakan sebagai kontrol positif dan negatif, pemberian ekstrak konsentrasi 20%, 40%, b/v dan 80% b/v masing-masing 3 ekor.

Instrumen Penelitian

Alat

Bisturi, pisau cukur, sarung tangan, kapas, hypafix, kassa, spidol warna, erlenmeyer, batang pengaduk, pipet tetes, beker glass, tabung reaksi, mikropipet, aluminium foil, jangka sorong, cawan petri, waterbath, kertas saring, *rotary evaporator*, gelas ukur, rak tabung reaksi, waterbact, blender, jangka sorong.

Bahan

Daun jeruk nipis(*Citrus aurantifolia*(Christm) Swingle) hewan uji, etanol 96%, alkohol 70%, eter, aquadest, betadin salep, etil asetat, asam asetat, anhidrat, H₂SO₄, NaOH, HCl 2N, FeCl₃, NaCl, NH₄OH. verban, kassa, plester.

Metode Penelitian

Determinasi tanaman

Dilakukan di laboratorium MIPA Universitas Ahmad Dahlan(UAD)

Preparasi serbuk sampel

Sampel daun jeruk nipis didapat dari daerah Kecamatan Doro Kabupaten Pekalongan. Dipilih bagian daun yang masih segar, dilakukan pemetikan di waktu pagi hari. Dilakukan sortasi basah, pencucian dengan menggunakan air mengalir, pengeringan dibawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam, sortasi kering, pengeringan daun jeruk nipis menggunakan oven 70°C sampai kering, penyerbukan menggunakan blender.

Pembuatan ekstrak etanol daun jeruk nipis

Pada penelitian ini pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 500 g serbuk simplisia daun jeruk nipis dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, direndam dengan larutan etanol 96% sebanyak 300 mL. Ditutup dengan aluminium foil dan dibiarkan selama lima hari sambil sesekali diaduk. Setelah lima hari, sampel disaring dan ampas yang dihasilkan ditambah dengan etanol 96% sebanyak 250 mL, ditutup dengan aluminium foil dan dibiarkan selama dua hari sambil sesekali diaduk. Setelah dua hari, sampel disaring. Semua filtrat dicampur menjadi satu, dievaporasi menggunakan rotary evaporator, sehingga diperoleh ekstrak kental daun jeruk nipis dan dibiarkan seluruh pelarut etanol menguap. Ekstrak ditimbang dan disimpan dalam wadah gelas tertutup (Depkes RI, 2008).

Penapisan fitokimia

Identifikasi flavonoid, pada ekstrak daun jeruk nipis 0,3 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas, ke dalam filtrat ditambahkan 0,1g serbuk magnesium dan 1ml asam klorida pekat dan 2ml amil alkohol dan biarkan memisah. Flavonoid positif jika warna merah, kuning hingga pada lapisan amil alkohol (Senth al, 2013).

Identifikasi saponin dengan uji busa dalam air panas. Busa yang stabil akan terus terlihat selama 5 menit dan tidak hilang pada saat penambahan 1 tetes HCL 2 N. menunjukkan adanya saponin (Depkes RI, 1995).

Uji tanin, pada sampel yang dilarutkan dalam air panas, disaring selagi panas, filtrat ditambahkan dengan 5 tetes FeCl₃. Hasil positif ditandai adanya endapan hitam kecoklatan (Anonim, 2001)

Uji alkaloid, pada sejumlah sampel dilarutkan dalam beberapa tetes asam sulfat 2N diuji dengan pereaksi Dragendorff dan pereaksi Mayer. Hasil positif diperoleh bila terbentuk endapan merah hingga hingga dengan pereaksi Dragendorff dan endapan putih kekuningan dengan pereaksi Mayer.

Perlakuan hewan uji

Kelinci dianestesi menggunakan kapas yang dibasahi dengan eter. Punggung kelinci dicukur menggunakan pencukur rambut. Punggung kelinci diukur dengan jangka sorong sepanjang 2 cm, lebar 0,5 cm dengan kedalaman 0.2 cm menggunakan spidol. Dioles alkohol 70%, dibuat luka sayat menggunakan pisau bedah steril. Darah yang dialiri aquades sampai berhenti. Diberikan perlakuan yang berbeda pada luka sayat dengan menggunakan ekstrak etanol daun jeruk nipis.

Pengukuran efek penyembuhan luka sayat

Dilihat waktu yang diperlukan untuk penutupan luka dengan sempurna dan penurunan panjang luka pada punggung kelinci.

Teknik Analisis Statistik

Data hasil berupa diameter pengecilan luka sayat, kemudian dianalisis secara statistika menggunakan metode *anova* (analisis varian satu arah). Di lanjutkan dengan *Tukey*.

HASIL

Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan benar merupakan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*(Christm) Swingle)

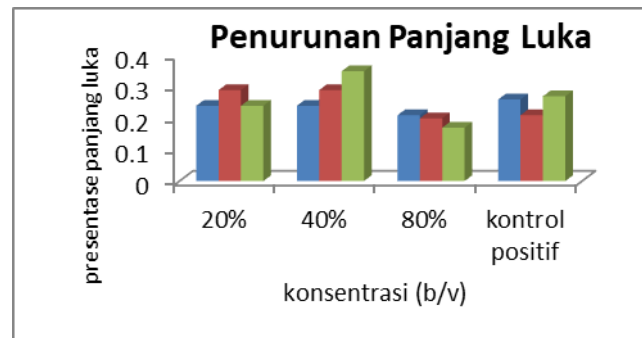
Tabel 1 Hasil Ekstraksi Daun Jeruk Nipis

Metode Ekstrak	Jenis Ekstrak	Pelarut	Bobot (Gram)	(Rendemen)
Maserasi	Ekstrak kental	Etanol 96%	64,83	0,129%

Tabel 2 Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis

Uji senyawa	Hasil	Menurut pustaka
Alkaloid		
Mayer	+ Endapan putih	Endapanputih
Dragendorf	+ Endapan kuning merah	Endapan merah
Flavonoid	+ Merah coklat	Merah coklat
Tanin	+ Hijau kehitaman	Hijau kehitaman
Saponin	+ Terdapat buih	Terdapat buih

Keterangan:(+) memberikan reaksi positif



Gambar 1. Grafik pengukuran diameter luka sayat pada punggung kelinci

Tabel 3 Panjang Luka Sayat

Kelompok perlakuan	Parameter Shapiro-wilk	Signifikasi (p)
Panjang luka sayat	20%	0,363
	40%	0,463
	80%	0,637
	K(+)	1,000
	K(-)	0,363

Tabel 4 Hasil Uji Homogenitas Panjang Luka Sayat

Kelompok perlakuan	Nilai signifikasi (p) uji homogenitas
Hasil panjang luka sayat	0,720

Tabel 5 Hasil Uji One Way ANOVA Panjang Luka Sayat

Kelompok perlakuan	Nilai signifikasi (p) uji ANOVA
Hasil panjang luka sayat	0,000

Tabel 6 Hasil Uji Tukey Panjang Luka Sayat

Kelompok perlakuan	Perbandingan	Sig	Keterangan
Konsentrasi 20%	40%	0,705	Tidak berbeda
	80%	0,002	Berbeda bermakna
	K(+)	0,049	Tidak berbeda
	K(-)	0,000	Berbeda bermakna
Konsentrasi	20%	0,705	Tidak berbeda

40%	80%	0,016	Berbeda bermakna
	K(+)	0,322	Tidak berbeda
	K(-)	0,001	Berbeda bermakna
Konsentrasi 80%	20%	0,002	Berbeda bermakna
	40%	0,016	Berbeda bermakna
	K(+)	0,322	Tidak berbeda
K (+)	K(-)	0,021	Berbeda bermakna
	20%	0,049	Berbeda bermakna
	40%	0,322	Tidak berbeda
K (-)	80%	0,322	Tidak berbeda
	K (-)	0,021	Berbeda bermakna
	20%	0,000	Berbeda bermakna
	40%	0,001	Berbeda bermakna
	80%	0,025	Berbeda bermakna
	K (+)	0,021	Berbeda bermakna

BAHASAN

Serbuk Sampel Daun Jeruk Nipis

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan pengotor serta bagian tanaman lain yang tidak diperlukan (Anonim 2013). Proses pencucian dilakukan untuk menghilangkan pengotor yang melekat pada bahan simplisia, dilakukan secara cepat dan tidak direndam dikarenakan bahan simplisia mengandung senyawa aktif yang mudah larut air dan mudah busuk. Sementara untuk menghilangkan kandungan air di permukaan bahan dilakukan proses penirisan. Setelah proses ini dilakukan perajangan untuk memperkecil ukuran sehingga dapat mempermudah dalam proses pengeringan dan penyerbukan. Semakin simplisia berukuran kecil maka semakin cepat penguapan air sehingga mempercepat dalam proses pengeringan (Anonim,2013).

Pengeringan dilakukan untuk menurunkan kadar air simplisia sampai tingkat yang dipersyaratkan sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang cukup lama sehingga terhindar dari tumbuhnya jamur serta menghentikan reaksi *enzimatis*. Penutupan dengan kain hitam dimaksudkan untuk melindungi paparan sinar ultra violet karena sinar tersebut dapat merusak kandungan senyawa kimia pada simplisia. Tanaman yang sudah kering ditandai dengan mudah patah apabila diremas. Penyerbukan sampel menjadikan ukuran sampel lebih kecil agar mempermudah atau meningkatkan senyawa yang ditarik pada saat ekstraksi.

Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis

Metode maserasi dipilih karena dapat meminimalisir kerusakan atau degradasi metabolit, proses dan alat yang digunakan sederhana. Pada maserasi terjadi proses keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar dan di dalam sehingga di perlukan penggantian pelarut secara berulang. (wibowo, 2013). Etanol 96% merupakan pelarut efektif dalam penarikan metabolit skunder, serta tidak toksik, mudah sekali menguap dikarenakan kandungan airnya sedikit. Didalam proses ini dilakukan pengadukan yang bertujuan untuk mempercepat kontak antara sampel dengan pelarut, sehingga lebih banyak kandungan senyawa yang terlarut. Untuk menarik lebih banyak senyawa juga dilakukan proses remaserasi menghasilkan filtrat yang berwarna hijau kecoklatan. Ekstrak dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*, dengan kecepatan 50 rpm suhu 40°C agar tidak merusak senyawa (Muharni dkk,2017). Ekstrak ini memiliki kadar air yang sesuai dengan persyaratan yaitu tidak lebih dari 10%.

Skrining Fitokimia

Uji alkaloid memberikan hasil positif dengan terbentuknya endapan berwarna putih dan coklat kemerahan. Endapan ini terjadi karena adanya pembentukan kompleks antara ion yang berasal dari reagen dan senyawa alkaloid.

Uji saponin memberikan hasil positif dengan terbentuknya busa yang stabil selama 10 menit. Busa yang dihasilkan pada uji saponin disebabkan karena adanya glikosida yang dapat membentuk busa dan air dan terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya.

Uji flavonoid memberikan hasil positif dengan terbentuknya warna jingga hingga merah ungu. Sementara uji tanin menunjukkan hasil positif dengan perubahan warna menjadi hijau akibat pembentukan senyawa kompleks antara tanin dengan FeCl_3 . Uji ini dapat menunjukkan adanya gugus fenol, pada tanin yang merupakan senyawa polifenol.

Efektivitas Penyembuhan Luka Sayat

Luka adalah suatu kerusakan yang terjadi pada kulit. Menurut Brown (2004) definisi luka adalah hilangnya atau rusaknya sebagian jaringan tubuh, yang disebabkan oleh perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sayatan, sengatan listrik atau gigitan hewan. Klasifikasi luka dibagi menjadi dua yaitu luka kontaminasi dan luka infeksi. Pembagian luka tersebut berdasarkan pada waktu kontaminasi (golden periode) yaitu terjadi pada 6 - 8 jam, setelah terjadi luka maka bakteri yang ada akan mencapai koloni tertentu dan menimbulkan infeksi kepada jaringan tubuh di sekitar luka atau pembuluh darah (David, 1996). Sementara pertimbangan waktu pada saat terjadi luka akan menentukan lamanya waktu penyembuhan yang dibutuhkan.

Dari gambar 1 menunjukkan bahwa rata-rata penurunan panjang luka konsentrasi ekstrak 20% sebesar 0,25%, Konsentrasi 40% sebesar 0,3% konsentrasi 80% sebesar 0,19%, Kontrol positif sebesar 0,24%, sedangkan untuk kontrol negatif sebesar 1,56%, Dari rata-rata yang didapat setiap perlakuan konsentrasi 20% dan 80% memiliki efektifitas yang sama dengan kontrol positif dalam penyembuhan luka sayat.

Zat aktif yang terdapat pada ekstrak etanol daun jeruk nipis diantaranya flavonoid, tanin, alkaloid, Dan saponin. Zat-zat ini dapat menunjang penyembuhan luka (Ruslim dkk.,2017). Flavonoid mampu mengurangi lipid peroksidasi yang dapat membantu dalam proses repitelisasi dan antimikroba. Penurunan lipid peroksida didalam flavonoid dapat mencegah nekrosis, memperbaiki vaskularisasi dan meningkatkan viabilitas serabut kolagen (Agarwal *et al.*, 2009). Saponin meningkatkan kemampuan reseptor TGF- β fibroblas berikatan dengan TGF- β yang merupakan faktor pertumbuhan yang diperlukan fibroblas dalam mensintesis kolagen (Rupina dkk.,2016). Tanin bersifat antimikroba dan dapat meningkatkan epitelisasi. Tanin juga diduga berperan dalam pengaturan transkripsi dan translasi *vascular endothelial growth factor* (VEGF). VEGF bertindak secara parakrin tidak hanya dalam endotel vaskuler kulit, tetapi juga keratinosit dan sel imun yang memperlihatkan efek repitelisasi dan pada saat waktu yang sama memulihkan angiogenesis serta perfusi oksigen (Paster *et al.*,2013). Sehingga flavonoid, tanin, dan saponin memiliki peranan dalam proses penyembuhan luka. Sementara alkaloid bertindak sebagai antibakteri, dengan mekanisme mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel tidak terbentuk secara utuh dan dapat menyebabkan kematian sel bakteri.

Analisis Data Statistik

Uji normalitas yaitu pengujian data untuk melihat apakah nilai terdistribusi normal atau tidak normal (Ghahali, 2011). Uji Shapiro-Wilk digunakan karena jumlah kelompok sampel <50 dan data berdistribusi normal karena nilai signifikan >0,05 sehingga data memenuhi syarat untuk dapat dilanjutkan pada uji *One Way ANOVA*.

Uji homogenitas digunakan untuk mengetahui homogenitas data. Data ini memiliki varians yang sama karena nilai signifikan > 0,05 Uji Levene menunjukkan nilai signivikasi 0,720 ($p > 0,05$), Sehingga data memenuhi syarat untuk dilanjutkan pada uji *One Way ANOVA*.

Uji *One Way ANOVA* digunakan untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan antara perlakuan. Hasil pengukuran panjang luka sayat pada punggung kelinci menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara perlakuan dengan nilai $p = 0,000$ yang berarti nilai ($p < 0,05$), kemudian untuk mengetahui letak perbedaan antara perlakuan dilakukan uji *Tukey*.

Dalam penelitian ini terdapat 5 kelompok sebagaimana tabel 6. Berdasarkan hasil dari analisis data yang telah dilakukan menunjukkan bahwa terdapat pencutian luka sayat pada

punggung kelinci dengan konsentrasi 80% setelah diberikan ekstrak etanol daun jeruk nipis secara topical, dari ketiga konsentrasi tersebut dosis yang paling efektif dalam penurunan luka sayat pada punggung kelinci yaitu pada konsentrasi 80% dan 40%. Karena pada konsentrasi tersebut memiliki efektivitas yang sama dengan kontrol positif tidak ada perbedaan antara kedua konsentrasi tersebut, maka dosis tersebut dinyatakan hampir tidak berbeda dengan kontrol positif dibandingkan dengan dosis yang lain. Selain itu juga terdapat perbedaan yang bermakna dengan kontrol negatif, sehingga data tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi 80% dan 40% dapat mempercepat dalam penurunan diameter luka sayat pada punggung kelinci.

SIMPULAN

Ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle) memiliki efektivitas terhadap penyembuhan luka sayat dimana ketiga konsentrasi memiliki efektivitas yang berbeda dan konsentrasi ekstrak 40% mempunyai efektivitas paling tinggi dalam penyembuhan luka sayat.

PUSTAKA ACUAN

- Anonim. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departement Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. (2013). *Pedoman Cara Pembuatan Simplisia yang Baik*. Jakarta: Departement Kesehatan Republik Indonesia.
- David, V. (1996). *Trauma*. London: Appleton & Lange.
- Depkes RI. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia, Edisi 1*. Jakarta: Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial Republik Indonesia. Hal. 8 -9, 11 - 12.
- Kaur, S. (2014). Study of Total Phenolic and Flavonoid Content, Antioxidant Activity and Antimicrobial Properties of Medical Plant. *Journal of Microbiology & Experimentation*, Volume 1, Issue 1.
- Lebas, F., P., Coudert, R., & Rouvier & H. D. Rochambeau. . (1986). *The Rabbit Husbandry, Health and Production*. Food and Agriculture Organization of The United Nation. Rome : Italy.
- Magistra, R. (2016). *Efek Anti Bakteri Ekstrak Daun Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia S) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Secara In Vitro*. Banda Aceh: Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala.
- Nweke, F. (2015). Effect of Citrus Aurantifolia Leaf Extract on Mycelia Growth and Spore Germination of Different Plant Pathogenic Fungi. *Advances in Life Science and Techonology*, Vol 31 ISSN 2224-7181 .
- Pariyana, Saleh, M. I., Tjekyan, S., & Hermansyah. (2016). Efektivitas Pemberian Ekstrak Daun Binahong (Anredera Cordifolia) Terhadap Ketebalan Jaringan Granulasi dan Jarak Tepi Luka pada Penyembuhan Luka Sayat Tikus Putih (Rattus Norvegicus). *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, Hal. 155 - 165, Volume 3 No 3, Oktober 2016.
- Putri, S. A., Sutadipura, N., & Roekmantara, T. (2015). Efek Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (Kalanchoe pinnata [Lam]Pers) terhadap Waktu Penyembuhan Luka Sayat pada Tikus Putih Jantan Galun Wistar. *Jurnal Kedokteran*, 886 - 893, ISSN : 2460 - 657X.
- R. Sjamsuhidayat, & Win de jon. (2004). *Luka. Dalam : Buku Ajar Ilmu Bedah*. Jakarta: EGC : 67- 8, 70 -1.
- Sewta, C., Mambo, C., & Wuisan, J. (2015). Uji Efek Ekstrak Daun Lidah Buaya (Aloe Vera L) Terhadap Penyembuhan Luka Insisi Kulit Kelinci (Orctolagus Cuniculus). *Jurnal e-Biomedik (eBM)*, 453-460, Volume 3, Nomor 1, Januari - April 2015.