JURNAL FARMASI SAINS DAN KOMUNITAS, November 2015, hlm. 70-76 Vol. 12 No. 2
ISSN: 1693-5683

PEMBUATAN DAN UJI AKTIVITAS SEDIAAN UNGUENTA *SCARLESS WOUND HEALING* DENGAN EKSTRAK BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) DAN ZAT AKTIF ANTIINFLAMASI NATRIUM DIKLOFENAK

Bertha Nathania*), Sri Hartati Yuliani
Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta

Abstract: *Wounds often leave scars that interfere with skin's aesthetic, even lead to health problems, in some of people, scars tend to grow excessively cause of keloid scarring or cuts. One of the causes of scarring wounds is the process of long-term inflammation. Diclofenac sodium is a bitter taste substances. Diclofenac sodium is a selective inhibitor, which inhibit COX-2 in inflammatory processes. Binahong (Anredera cordifolia) is one of the plants in Indonesia, which came from China. Binahong leaves contain saponins, flavonoids, namely quinon, steroids, monoterpenoid, and sesquiterpenoid which has been known as a wound healer. The making of ointment scarless wound healing dosage form is by combining binahong leaves extract and the addition of anti-inflammatory agent diclofenac sodium (F4), which expected to reduce the wound scar on the Switzerland Webster strain mice's skin that has bleed with incision method. The test that has been used is histopathology test followed by an extensive calculation of collagen. The calculation data were analyzed using T-test with 95% confidence level. The results from this research indicate that ointment of binahong extract and diclofenac sodium (F4) produce less scar.*

Key words: *Ointment scarless wound, binahong extract, diclofenac sodium, histopathology test*

1. Pendahuluan

Luka kerap meninggalkan bekas yang mengganggu estetika kulit, bahkan dapat menyebabkan keluhan kesehatan. Wilgus, Vodovotz, Vittadini, Clubbs, dan Oberyszyn (2003) menyatakan, bahwa pada sebagian orang bekas luka ini tumbuh secara berlebihan menyebabkan luka parut atau keloid, bentuknya berupa benjolan yang keras di area bekas luka. Pertumbuhan jaringan parut ini dapat menekan serabut saraf di sekitarnya hingga menimbulkan rasa nyeri terus menerus (Suranto, 2007). Ada beberapa bukti nyata bahwa fase inflamasi selama fase penyembuhan sangat terkait erat dengan tingkat pembentukan parut luka. (Shaw *and* Martin, 2009).

Mekanisme pembentukan parut luka ini melibatkan inflamasi, fibroplasia, pembentukan jaringan granulasi, dan pematangan parut. Fase inflamasi terjadi hampir bersamaan dengan hemostasis, berlangsung selama sekitar 3 hari (Boateng, 2008). Sel-sel inflamasi dibawa ke area jaringan yang terluka, sebagai tindakan respon inflamasi yang dikeluarkan oleh tubuh, ketika terjadi luka pada jaringan. Proses respon inflamasi akut dapat terjadi dalam hal ini, yaitu diikuti dengan proliferasi fibroblas, sel-sel yang bertanggung jawab untuk sintesis berbagai komponen jaringan, termasuk kolagen dan fibrin. Selama fase inflamasi akut, sel-sel progenitor akan berpindah ke jaringan yang cedera. Proliferasi sel yang cepat terjadi, akan menghasilkan pembentukan pembuluh darah baru dan epitel. Fibrin kemudian berdiferensiasi menjadi fibroblas, yang merupakan sel yang bertanggung jawab dalam deposisi kolagen dan kontraksi luka (Shaw *and* Martin, 2009).

Mekanisme yang terjadi saat proses inflamasi berlangsung, dapat menyebabkan beberapa komponen intraseluler seperti adenosin trifosfat dan ion K^+ akan langsung merangsang nosiseptor (*nociceptor activators*), dan komponen lainnya akan menyebabkan nosiseptor menjadi lebih

*Email korespondensi: *berthanathania@ymail.com*

hipersensitif terhadap rangsang berikutnya (*nociceptor sensitizers*). Prostaglandin E_2 merupakan sebuah bentuk prostanoid, yang berikatan pada reseptor prostaglandin E dan tirosin kinase A, hal ini menyebabkan sensitisasi berlangsung, tanpa langsung menimbulkan nyeri. Bradikinin akan mengaktifkan dan mensensitisasi nosiseptor dengan berikatan pada reseptor $B_{22.}$ Produksi prostanoid pada tempat cedera merupakan komponen utama reaksi inflamasi (Nofiarny, 2007).

Inflamasi akut akan menyebabkan pengeluaran berbagai mediator inflamasi, seperti: bradikinin, prostaglandin, leukotrien, amin, purin, sitokin, dan sebagainya yang dapat mengaktivasi atau mensensitisasi nosiseptor secara langsung atau tidak langsung. Obat-obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID), mencegah transduksi dengan menghambat berbagai mediator inflamasi. Diklofenak termasuk salah satu obat NSAID, digunakan untuk meringankan nyeri dan inflamasi otot rangka dan penyakit sendi misalnya, *rheumatoid arthritis*, *osteoarthritis*, dan *ankylosing spondylitis*, keseleo, dan nyeri lainnya seperti *renal colic*, *acute gout*.(Sweetman, 2009). Natrium diklofenak merupakan selektif inhibitor yang dapat menghambat COX-2 (Nofiarny, 2007).

Anredera cordifolia atau binahong digunakan secara tradisional untuk mengobati berbagai penyakit, termasuk penyakit kulit, hipertensi, inflamasi atau peradangan (Sukandar, Fidrianny, dan Adiwibowo, 2011). Daun dari binahong memiliki kandungan yaitu saponin, flavonoid, quinon, steroid, monoterpenoid, dan sesquiterpenoid, sedangkan akarnya memiliki kandungan flavonoid, polifenol, tanin, dan steroid (Sukandar, dkk, 2011). Asam ursolat diidentifikasi dalam ekstrak etanol binahong dapat memperbaiki fungsi permeabilitas barrier kulit, yang telah terbukti dalam penelitian membuat ekstrak binahong mampu menyembuhkan luka (Yuliani, 2012).

Salep atau unguenta merupakan sediaan *semisolid*, yang dimaksudkan untuk aplikasi eksternal pada kulit atau selaput lendir. Sediaan unguenta mengandung kadar air kurang dari 20% (*volatil*) dan basis hidrokarbon lebih dari 50% (USP, 2009). Basis hidrokarbon ini digunakan terutama untuk efek yang lama dan untuk obat-obatan yang terhidrolisis pesat, sebab lebih stabil dalam basis hidrokarbon daripada di basis yang berisi air (USP, 2009).

Berbagai macam obat yang beredar di pasaran, hanya memberikan efek menipiskan parut luka namun memberikan hasil yang belum tentu memuaskan. Hal ini yang menjadi pertimbangan, untuk melakukan penelitian lebih lanjut terkait kombinasi zat antiinflamasi natrium diklofenak dengan zat aktif penyembuh luka ekstrak binahong, dalam formulasi sediaan unguenta sebagai sediaan *scarless wound* yang dapat memberikan efek *scarless*, agar masyarakat mendapatkan hasil yang memuaskan dalam segi estetika pada kulit. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah penambahan natrium diklofenak yang dikombinasikan dengan ekstrak binahong dapat mengurangi parut luka.

2. Metode Penelitian

Subjek uji yang digunakan adalah mencit putih (*mus musculus*) galur Swiss Webster, yang diperoleh dari Laboratorium Imono Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta. Bahan - bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong (*Anredera cordifilia*) yang diperoleh dari kebun obat Universitas Sanata Dharma (Paingan, Yogyakarta), zat antiinflamasi natrium diklofenak yang diperoleh dari PT. Sanbe, Bioplacenton®, vaselin album diperoleh dari PT. Bratacho, etanol 96% (Labora), akuades, eter, kapas, krim Veet®, ketamin, formalin, dan kloroform.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Rheosys instrument*, *Beaker glass*, *mantle heater*, *stirrer*, *magnetic stirrer*, corong *buchner*, cawan porselin, *waterbath*, pompa vakum, labu ukur, *sentrifuge*, *sentrifuge tube*, mortir, stamper, jarum ose, cawan petri, soklet, batang pengaduk, sendok, spuit injeksi, pinset, gunting, *scalpel*, *blade*, jarum bedah, benang operasi, kertas payung, kapas, plastik *wrap*, sel elektrolisis, plat besi, flakon, wadah tertutup (toples), dan mikroskop cahaya (mikrofotografi).

2.1. Determinasi tanaman binahong

Determinasi dilakukan di Laboratorium Kebun Tanaman Obat, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.

2.2. Pembuatan ekstrak binahong

Simplisia daun binahong kering ditimbang 200 g. Dimasukkan ke dalam *beake*r berisi 1000 mL etanol 96% dan diaduk di atas *magnetic stirrer*, dikontrol pada suhu 70ºC selama 90 menit. Ekstrak disaring dengan corong *Buchne*r, ditambahkan 5% akuades ke dalam *beaker* berisi filtrat. Dua buah plat dimasukkan ke dalam *beaker* berisi filtrat tersebut dan dihubungkan dengan sel elektrolisis, dilakukan hingga volume ekstrak ¼ dari volume awal. Hasil elektrolisis kemudian disaring dan disentrifugasi. Bagian supernatan diambil dan disimpan dalam *beaker* yang tertutup *aluminium foil.*

2.3. Pembuatan unguenta scarless wound

Formula yang digunakan pada penelitian ini ditunjukkan pada Tabel I.

Tabel I. Formula Unguenta *Scarless Wound*

R/ Bahan	F1	F2	F3	F4
Vaselin Album	90	90	90	90
Ekstrak binahong	-	5	-	5
Etanol	10	5	5	-
Natrium diklofenak	-	-	5	5

Keterangan: Basis unguenta (F1); unguenta binahong (F2); unguenta natrium diklofenak (F3); unguenta binahong natrium diklofenak (F4)

2.3.1. Pembuatan sediaan. Vaselin album ditimbang 90 g masing – masing untuk 4 formula, diletakkan pada cawan porselin, dipanaskan sampai meleleh. Dilanjutkan sterilisasi uap bertekanan tinggi, dengan autoklaf pada suhu 121 ºC selama 30 menit. *Mortir* dan *stamper* disterilisasi kering, dengan oven di suhu 115 ºC selama 1 jam. Ekstrak etanol daun binahong dan natrium diklofenak disiapkan di dalam *laminar air flow* (LAF). Ke empat formula pada Tabel I, diberi perlakuan yang sama, basis vaselin album steril dicampur di dalam *mortir* hangat, diaduk sampai homogen dan dingin dan dilakukan di bawah LAF secara aseptis.

2.3.2. Cara sterilisasi ruangan. Sterilisasi ruangan dilakukan 24 jam sebelum formulasi. Ruangan aseptis yang berada di Laboratorium Steril Farmasi USD, dibersihkan dengan etanol 70% dengan cara dilap, pastikan setiap sudut ruangan dibersihkan dan tidak ada yang terlewatkan, kemudian lampu UV di LAF dan ruangan aseptis dinyalakan selama 24 jam. Sterlisasi *tube* dicuci menggunakan etanol 70%. *Tube* yang telah steril, plastik *filling*, dan sudip diletakkan di dalam LAF terpapar sinar UV 24 jam.

2.4. Cara uji incision wound

Hewan uji mencit galur Swiss Webster, berat 25-28 g. Mencit dikelompokkan menjadi 6 kelompok yaitu masing-masing 3 ekor: tanpa perlakuan apapun / kontrol(-), Bioplacenton®, basis unguenta, unguenta binahong, unguenta natrium diklofenak, unguenta binahong + natrium diklofenak

Punggung mencit dicukur sampai halus, diolesi depilatori Veet®, didiamkan 5 menit. Krim depilatori dibersihkan dan diamkan mencit selama 48 jam. Mencit ditimbang dan dikelompokkan secara acak. Mencit dianastesi dengan ketamin via i.m. di paha. Kulit punggung dibersihkan dengan kapas yang telah dibasahi etanol 70%. Kulit kemudian diberi *incision wound* sebesar 1 cm dengan *blade steril*. Luka melintang dijahit di bagian tengah sayatan luka, menggunakan jarum jahit dan benang jahit operasi. Oleskan 0,1 mL sediaan unguenta *scarless wound healing* pada luka dengan spuit (yang sudah dilepas jarumnya), sesuai dengan 4 formula masing - masing. Hewan uji mencit diberi Bioplasenton sebagai pembanding sediaan. Pemberian dilakukan setiap 12 jam sekali selama 2 hari atau 48 jam.

Seluruh hewan uji ditempatkan di kandang kaca, dengan suhu ruangan terkontrol. Setelah 48 jam, mencit dieutanasia dengan kloroform berlebih (via inhalasi) sesuai *ethical clearance.* Diambil kulit mencit pada punggung yang telah diberi perlakuan dan diobati, seluas 2x2 cm, diletakkan diatas karton kecil seluas 2x2 cm, dan disimpan dalam flakon berisi formalin 10%. Sampel kulit di fiksasi dengan HE, dibuat preparat oleh bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UGM

2.5. Uji histopatologi

Pengamatan histopatologi dilakukan dengan menggunakan potongan jaringan ditempelkan pada kaca objek yang sebelumnya telah diolesi albumin-gliserin sebagai perekat. Diamati dengan mikroskop cahaya.

2.6. Uji terhadap sediaan

2.6.1. Uji pH. Uji pH dilakukan dengan menggunakan pH indikator universal. Setelah sediaan selesai dibuat.

2.6.2. Uji viskositas. Uji viskositas dilakukan dengan menggunakan *Rheosys meryln II*, yaitu instrument *Rheosys*, yang ada di laboratorium Farmasi Fisik Universitas Sanata Dharma. C*one and plate* sebagai wadah sediaan pada instrumen tersebut. Letakkan sedikit sampel sediaan unguenta *scarless wound* diatas *cone* lalu *plate* ditekan perlahan. Tentukan rpm 50-100. Hasil pembacaan viskositas diperoleh otomatis pada grafik yang diperoleh.

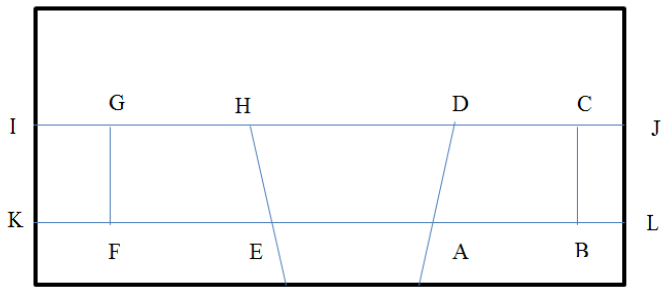
2.6.3. Uji daya sebar. Unguenta ditimbang 0,5 g kemudian diletakkan di tengah kaca bulat berskala. Di atas unguenta diletakkan kaca bulat lain yang telah ditimbang dan diberi beban hingga gabungan keduanya menjadi 125 g, selama 1 menit. Kemudian dicatat diameter yang terbentuk.

2.6.4. Uji Homogenitas. Diletakkan sediaan secukupnya pada *object glass*. Letakkan *object glass* yang lain di atas *object glass* pertama, tekan hingga keduanya merapat. Diamati homogenitas sebarannya. Ulangi sebanyak 3 kali.

2.6.5. Uji sterilitas sediaan. *Nutrient* Agar (*Oxoid*) ditimbang 21 gram ditambah akuades 750 mL, diaduk homogen dengan batang pengaduk. Media dipanaskan dengan elemen pemanas sampai tercampur homogen. Media dituangkan 15 mL ke dalam 50 tabung reaksi dan ditutup dengan penutup tabung. Seluruh tabung reaksi berisi media disterilisasi uap autoklaf dengan tekanan 1 atm 121°C selama 15 menit.

Media steril dituang dari tabung reaksi ke dalam cawan petri di dalam MSC, secara aseptis. Media *Nutrient* Agar di dalam cawan petri dibiarkan hingga memadat. Unguenta yang akan diuji sterilitasnya disiapkan. Kemasan unguenta dibersihkan dengan alkohol 70%. Secara aseptis, ambil 1 ose unguenta dan digoreskan metode streak pada permukaan media agar. Sampel terdiri dari 6 formula, dan sisa media sebagai kontrol media. Tiap petri diberi label dan diinkubasi terbalik dalam inkubator selama 24 jam.

2.6.6. Metode Penghitungan Ketebalan Epidermis. Pengukuran tiap preparat sampel dilakukan menggunakan instrumen Image-J. Secara skematis, metode penghitungan ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema dasar penghitungan luas epidermis

Garis IJ, batas luar epidermis kulit mencit (subjek / hewan uji mencit). Garis KL, perbatasan antara lapisan epidermis dengan lapisan dermis kulit mencit (subjek / hewan uji mencit). A dan E, batas luka pada epidermis bagian dalam, pada penampang organ kulit mencit (subjek / hewan uji) bagian kanan. D dan H merupakan batas luka pada epidermis bagian luar, pada penampang organ kulit mencit (subjek / hewan uji) bagian kiri. Panjang masing-masing AB dan EF adalah 5 pixel.

Ukuran panjang yang digunakan oleh instrumen Image-J adalah 62 ppi (pixel per inci). BC dan FG merupakan garis yang masing-masing tegak lurus terhadap AB dan EF. Sedangkan CDA dan GHE adalah garis yang terbentuk sesuai dengan bentuk penampang epidermis kulit. Dengan demikian, luas penampang epidermis yang dihitung adalah jumlah luas penampang epidermis ABCD dan EFGH. Perhitungan luas dilakukan menggunakan instrumen Image-J.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil Determinasi

Identifikasi tanaman ini bertujuan untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan adalah tanaman binahong. Hasil determinasi menunjukkan bahwa daun dan akar binahong yang digunakan memiliki nama ilmiah *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.



(a) **(b)**

Gambar 2. Proses elektrolisis (a); hasil ekstrak binahong (b)

3.2. Ekstraksi Binahong dalam Etanol

Dilakukan penambahan akuades untuk memudahkan proses elektrolisis. Dipilih akuades karena dapat konduktor yang baik. Proses elektrolisis ini dilakukan untuk menghilangkan klorofil yang ada dalam filtrat ekstrak etanol binahong tersebut dengan adanya daya arus listrik yang dialirkan, harapannya agar formulasi sediaan yang dihasilkan ini memberikan tampilan yang bagus secara estetika karena berwarna kuning bening (Gambar 2).

3.3. Pembuatan Unguenta Scarless Wound

Basis dengan vaselin album ini dipilih karena zat aktif antiinflamasi natrium diklofenak yang akan diformulasikan dalam sediaan sangat mudah larut dengan air dan akan terhidrolisis apabila bersentuhan dengan air, hal ini terjadi karena natrium diklofenak merupakan garam. Basis vaselin ini dapat diaplikasikan sebagai basis penyembuh luka, tetapi perlu dicatat basis ini tidak dapat diaplikasikan pada luka yang menimbulkan nanah.Sediaan unguenta *scarless wound healing* yang dibuat, seperti basis unguenta (F1), unguenta binahong (F2), unguenta natrium diklofenak (F3), unguenta binahong diklofenak (F4) dapat tercampur rata pada saat formulasi dan telah memenuhi persyaratan pemerian yaitu sediaan tidak berbau tengik dan berwarna putih.

3.4. Hasil Uji Sifat Fisis

Uji pH dilakukan untuk mengetahui bahwa sediaan yang dihasilkan telah sesuai pH nya dengan pH kulit. Dari keempat formula ini, menunjukkan hasil pada Tabel II, bahwa pH telah sesuai dengan pH kulit, yaitu 7. Dimana *range* untuk pH kulit itu sendiri adalah 5,5- 7.

Uji daya sebar ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan sediaan unguenta *scarless wound* dapat menyebar dan merata saat diaplikasikan pada area yang diinginkan yaitu di atas permukaan kulit. Data viskositas diambil dari salah satu rpm yang telah direplikasi sebanyak tiga kali, yaitu pada 50 rpm. Uji ini dilakukan untuk mengetahui tingkat kekentalan unguenta. Viskositas dapat diartikan sebagai tahanan untuk mengalir. Hasil yang ditunjukkan pada Tabel II, viskositas paling besar ditunjukkan oleh unguenta natrium diklofenak. Data viskositas ini juga digunakan untuk melihat profil reologi sediaan unguenta *scarless wound* yang dibuat adalah *pseudoplastis*.

Uji homogenitas yang dilakukan menunjukkan hasil bahwa sediaan unguenta yang telah diformulasikan, tersebar merata atau telah homogen, hal ini ditunjukkan dengan tersebar partikel secara halus merata diseluruh permukaan kaca.

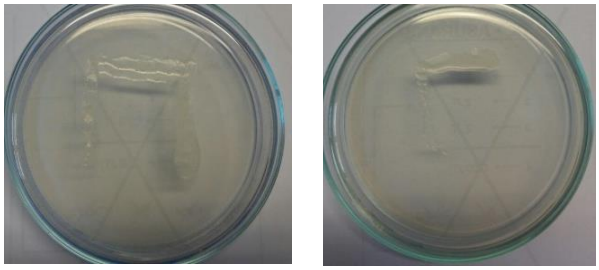
3.5. Hasil Uji Sterilitas

Uji sterilitas ini dilakukan setelah semua formula di *streak* pada media pertumbuhan bakteri, beserta satu media sebagai kontrol media (Gambar 3). Setiap petri kemudian diberi label dan diinkubasi terbalik dalam inkubator selama 24 jam, dengan kondisi lampu UV di dalam inkubator mati. Hasil yang diperoleh setelah inkubasi 24 jam, yakni semua sediaan dan kontrol media terbukti *steril*.

3.6. Hasil Uji Potensi Scarless

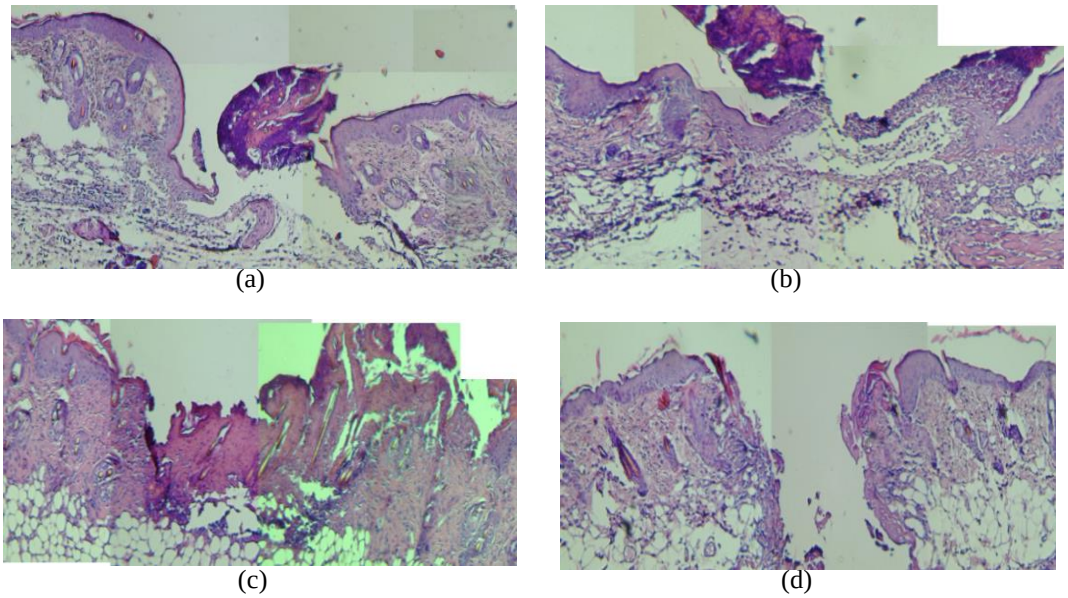
Preparat ini dihitung semi kuantitatif dengan menggunakan *software Image*-J dilakukan oleh 3 orang yang berbeda, hal ini dilakukan untuk menjamin validitas data tersebut, dimana pada daerah tersebut banyak terdapat jaringan kolagen yang terbentuk (Gambar 4). Dalam penghitungan luas permukaan epidermis ini didapatkan satuan *pixel*, yang dikonversi menjadi inci kemudian dikonversi menjadi mm, hal ini dilakukan karena mm merupakan satuan internasional (SI).

Berdasarkan hasil yang telah dikonversi dari *pixel* menjadi mm^2, dilanjutkan menghitung pengurangan rata- rata luas epidermis dari (F4) unguenta binahong diklofenak dan (F3) unguenta natrium diklofenak terhadap kontrol negatif pada Tabel III. Unguenta natrium diklofenak (F4) menunjukkan hasil 1,202 mm^2, hal ini menunjukkan bahwa benar dengan adanya penambahan natrium diklofenak dapat menekan fase inflamasi yang terjadi, dan mengurangi parut luka.



(a) (b)

Gambar 3. Hasil uji sterilitas (a) unguenta natrium diklofenak, (b) unguenta binahong natrium diklofenak



(a) (b)

(c) (d)

Gambar 4. Hasil Preparat Pengecatan HE (a) unguenta, (b) unguenta binahong, (c) unguenta natrium diklofenak, (d) unguenta binahong natrium diklofenak

Tabel II. Data Uji pH, dan Selisih Rata-Rata Daya Sebar, Viskositas Terhadap Basis Unguenta

Formula	Uji pH	ΔUji daya sebar (cm) rata-rata	ΔUji viskositas (pa.s) 50 rpm rata-rata ± SD
Unguenta natrium diklofenak (F3)	7	-0,608	3,4
Unguenta binahong diklofenak (F4)	7	-0,8	2,5

Tabel III. Pengurangan Hasil Penghitungan Rata-Rata Luas Epidermis

Formula	Pengurangan rata- rata luas epidermis mm^2
F3	1,689
F4	1,202

Hasil juga diolah secara statistik dengan menggunakan Uji T dengan taraf kepercayaan 95% untuk menganalisis sampel tersebut memiliki *scar* atau tidak. Sedangkan dari hasil data yang diperoleh, unguenta binahong diklofenak mampu mengurangi pembentukan parut luka. Namun penelitian lebih lanjut dengan optimasi formula unguenta *scarless wound*, dengan metode eksisi dan tikus sebagai hewan uji, perlu dilakukan, dan ditunggu hingga luka benar-benar sembuh. Hal ini untuk memastikan, apakah *scar* memang benar terbentuk atau tidak pada akhir proses penyembuhan luka

4. Kesimpulan

Penambahan zat aktif antiinflamasi natrium diklofenak dalam unguenta *scarless wound healing* dengan ekstrak binahong, terbukti memiliki kemampuan pengurangan parut luka.

Daftar Pustaka

Boateng, J.S., Matthews, K.H., Stevens, H.N.E., and Eccleston, G.M., 2008. Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review. *Journal of Pharmaceutical Science*, 97 (8), 2893-2896.

Nofiarny, D., 2007. Breaktrough in Management of Acute Pain, Dexa Media. *Jurnal Kedokteran dan Farmasi*, 4 (20), 151-154.

Sukandar, E.Y., Fidrianny, I., and Adiwibowo, L.F., 2011. Efficacy of Ethanol Extract of *Anredera cordiofilia* (Ten) Steenis Leaves on Improving Kidney Failure in Rats. *International Journal of Pharmacology*, 7 (8), 850-851.

Suranto, A., 2007. *Terapi Madu*, Jakarta: PT Penebar Swadaya Plus, p.124.

United States Pharmacopeial Convention, 2009. Topical and Transdermal Drug Products, *Pharmacopeial Forum The United States Pharmacopeia*, 35 (3), Rockville, pp.751-753.

Wilgus, T.A., Bergdall, V.K., Vittadini, E., Clubbs, E.A., Oberyszyn, T.M., 2003. Reduction of Scar Formation in Full-Thickness Wounds with Topical Celexocib Treatment. *Wound Repair Regen*, 11, pp. 25-27.

Yuliani, S.H., 2012. Formulasi Sediaan Hidrogel Penyembuh Luka Ekstrak Etanol Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten) steenis), *Disertasi*, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.