

Research Article

## Pengaruh Ekstrak Daun Mangrove *B. gymnorrhiza* Terhadap Pemulihan Pankreas dan Penyembuhan Ulkus Mencit Diabetes

Erlix Rakhmad Purnama<sup>a\*</sup>, Jannatul Makwa<sup>b</sup>, Yusril Virda Muttaqien<sup>c</sup>

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jawa Timur, Indonesia.

Email: <sup>a\*)</sup>erlixpurnama@unesa.ac.id, <sup>b)</sup>jannatul@gmail.com, <sup>c)</sup>yusril\_vm@gmail.com

Submitted: 2024-10-14

Revised: 2024-10-18

Accepted: 2024-10-21

### Abstrak

Hiperglikemia dapat menyebabkan peningkatan Reactive Oxygen Species (ROS) yang memperparah kerusakan sel  $\beta$  pankreas. Luka fisik yang dialami oleh penderita hiperglikemia dapat berkembang menjadi ulkus diabetikum. Sel fibroblas merupakan sel yang bertanggung jawab dalam mengembalikan struktur dan fungsi pada jaringan ulkus. *Bruguiera gymnorrhiza* diketahui memiliki kemampuan sebagai antioksidan dan antiinflamasi, sehingga berpotensi membantu pemulihan sel  $\beta$  pankreas serta penyembuhan ulkus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun *B. gymnorrhiza* terhadap pemulihan sel  $\beta$  pankreas dan penyembuhan ulkus pada mencit diabetes. Percobaan dilakukan pada 24 ekor mencit dibagi menjadi enam kelompok dengan empat pengulangan, meliputi kontrol normal (KN), kontrol negatif (K-), dosis I (42 mg/kg BB), dosis II (84 mg/kg BB), dosis III (126 mg/kg BB), dan kontrol positif (KP). Mencit pada kelompok selain KN diinduksi aloksan sebanyak 2,5 mg/kg BB. Analisis skoring kerusakan sel  $\beta$  pankreas dan jumlah sel fibroblas pada ulkus dilakukan menggunakan uji statistik Kruskal-Wallis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun *B. gymnorrhiza* secara signifikan mempengaruhi pemulihan sel  $\beta$  pankreas ( $p < 0,05$ ) dan meningkatkan jumlah sel fibroblas pada jaringan ulkus ( $p < 0,05$ ), dengan efek paling optimal terlihat pada dosis II (84 mg/kg BB) dan dosis III (126 mg/kg BB). Dosis optimal ini menghasilkan pemulihan yang signifikan baik dalam pemulihan pankreas maupun dalam peningkatan jumlah fibroblas, yang berperan penting dalam penyembuhan ulkus. Dengan demikian, ekstrak daun *B. gymnorrhiza* memiliki potensi sebagai bahan obat herbal yang efektif untuk pemulihan pankreas dan penyembuhan ulkus diabetikum.

**Kata Kunci:** Antioksidan; Fibroblas; Hiperglikemia; Kerusakan sel.

### Abstract

Hyperglycemia can lead to an increase in Reactive Oxygen Species (ROS), exacerbating the damage to pancreatic  $\beta$  cells. The physical wounds experienced by patients with hyperglycemia can develop into diabetic ulcers. Fibroblast cells are responsible for restoring the structure and function of ulcer tissue. *Bruguiera gymnorrhiza* is known to have antioxidant and anti-inflammatory properties, thus potentially aiding in the recovery of pancreatic  $\beta$  cells and the healing of ulcers. This study aims to determine the effect of *B. gymnorrhiza* leaf extract on the recovery of pancreatic  $\beta$  cells and ulcer healing in diabetic mice. The experiment was conducted on 24 mice divided into six groups with four repetitions, including normal control (NC), negative control (NC-), dose I (42 mg/kg BW), dose II (84 mg/kg BW), dose III (126 mg/kg BW), and positive control (PC). Mice in groups other than NC were induced with alloxan at a dose of 2.5 mg/kg BW. The analysis of  $\beta$  pancreatic cell

*damage scoring and the number of fibroblast cells in the ulcer was performed using the Kruskal-Wallis statistical test. The research results show that the administration of B. gymnorrhiza leaf extract significantly affects the recovery of pancreatic  $\beta$  cells ( $p < 0.05$ ) and increases the number of fibroblast cells in ulcer tissue ( $p < 0.05$ ), with the most optimal effects observed at dose II (84 mg/kg BW) and dose III (126 mg/kg BW). This optimal dose results in significant recovery both in pancreatic recovery and in the increase of fibroblast cells, which play an important role in ulcer healing. Thus, the extract of B. gymnorrhiza leaves has the potential to be an effective herbal medicine for pancreatic recovery and the healing of diabetic ulcers.*

**Keywords:** Antioxidants; Cell damage; Fibroblasts; Hyperglycemia.

Copyright © 2024. The authors (CC BY-SA 4.0)

## Pendahuluan

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia karena terjadi kelainan sekresi insulin dan atau defisiensi insulin serta kerja insulin (resistensi jaringan terhadap insulin). Diabetes melitus dapat menyebabkan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein [1]. Hiperglikemia dalam tubuh mampu meningkatkan terjadinya stres oksidatif atau radikal bebas [2]. Kondisi hiperglikemia menyebabkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) di dalam mitokondria meningkat sehingga menyebabkan stres oksidatif yang akan memperparah kerusakan sel  $\beta$  pankreas [3]. ROS yang dibentuk oleh glikasi nanoenzimatik protein, oksidasi glukosa, dan peningkatan peroksidasi lipid dapat menyebabkan kerusakan enzim dan juga meningkatkan resistensi insulin [4]. Diabetes terjadi akibat gangguan atau defisiensi insulin pada sel-sel  $\beta$  Langerhans kelenjar pankreas. Insulin merupakan hormon yang berperan dalam proses pemecahan glukosa yang diserap ke dalam tubuh dan proses metabolisme glukoneogenesis pada organ hepar. Resistensi insulin menyebabkan penurunan kemampuan insulin dalam menghambat proses glukoneogenesis sehingga terjadi peningkatan kadar glukosa darah dalam hepar [5]. Peningkatan senyawa ROS dapat menyebabkan kerusakan lipid, DNA, dan protein pada jaringan tubuh sehingga terjadi ketidakseimbangan antioksidan protektif dan peningkatan produksi radikal bebas yang dikenal dengan stres oksidatif. ROS yang terbentuk dapat menyebabkan kerusakan pada sel, salah satunya adalah sel  $\beta$  pankreas yang akan mengganggu sekresi insulin dan akan disertai dengan peningkatan hasil peroksida lipid [6].

Secara anatomis, pankreas merupakan kelenjar yang terletak di kuadran kiri atas perut, dengan kepala menempel pada duodenum. Pankreas terdiri dari jaringan eksokrin, yang menghasilkan enzim pankreas seperti amilase, peptidase, dan lipase, serta jaringan endokrin, yang menghasilkan hormon insulin, glukagon, dan somatostatin [7]. Pankreas berisi dua jenis jaringan utama, yaitu asini dan pulau-pulau Langerhans. Pulau Langerhans tersusun oleh tiga jenis sel utama yaitu sel alfa, sel beta, dan sel delta [8]. Sel alfa menghasilkan glukagon untuk meningkatkan glukosa darah, sel beta menghasilkan insulin untuk menurunkan gula darah atau glukosa darah agar kembali normal, sel delta menghasilkan sematostatin, yang menghambat kerja sel alfa dan sel beta [9]. Diameter pulau Langerhans sebesar 0,1-0,2 mm dan di dalamnya berisi ribuan sel. Pulau Langerhans tampak lebih pucat dibandingkan dengan area eksokrin karena tidak memiliki granula zymogen [10].

Insulin memiliki efek terhadap metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang dapat mengurangi kadar glukosa, asam lemak dan asam amino dalam darah dan meningkatkan penyimpanan bahannya karena molekul-molekul nutrisi ini memasuki darah selama keadaan absorpsi, insulin menginduksi penyerapan bahan-bahan ini oleh sel-sel dan masing-masing mengubahnya menjadi glikogen, trigliserida dan protein. Kerusakan pada substansi dalam sel  $\beta$  pankreas menyebabkan penurunan granula pembawa insulin, menyebabkan metabolisme

glukosa yang buruk, yang mengakibatkan peningkatan kadar glukosa darah [11]. Banyak faktor yang dapat menyebabkan kerusakan sel beta pankreas salah satunya yaitu zat diabetogenik, zat diabetogenik yang dapat bersifat toksik adalah senyawa aloksan [12].

Aloksan merupakan salah satu senyawa yang digunakan sebagai agen penginduksi hiperglikemia pada hewan uji. Faktor utama penyebab kerusakan sel  $\beta$  pankreas yang diinduksi aloksan adalah adanya pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Pembentukan ROS dimulai dengan reduksi aloksan pada sel  $\beta$  Langerhans. Aloksan memiliki aktivitas tinggi terhadap senyawa seluler dengan gugus SH, glutathione tereduksi (GSH), sistein dan senyawa sulfahidril yang terikat protein (misalnya, ezim yang mengandung SH). Hasil dari proses reduksi aloksan adalah asam dialurat dan selanjutnya melewati proses reoksidasi ulang menjadi aloksan. Reaksi antara aloksan dengan asam dialurat adalah proses yang dimediasi oleh radikal aloksan intermediet (HA). Faktor lain selain pembentukan oksigen reaktif yaitu gangguan homeostatis kalsium intraseluler dan aloksan dapat meningkatkan konsentrasi ion kalsium sitosol bebas dalam  $\beta$  Langerhans pankreas. Secara histopatologi, kerusakan sel beta pada mencit yang diinduksi dengan aloksan memperlihatkan bentuk, ukuran, serta masa di dalam pulau Langerhans berkurang, sel beta mengalami nekrosis, sel beta mengalami atropi, dan deposisi amiloid ekstrasel [13].

Luka pada kaki pasien DM yang disebabkan karena trauma, misalnya kemasukan pasir, tertusuk duri, lecet akibat sepatu atau sandal sempit dan bahan terbuka bisa saja berkembang menjadi ulkus diabetikum [14]. Ulkus diabetikum merupakan komplikasi akut diabetes yang ditandai dengan adanya kematian jaringan serta luka pada area integumen yang menyebar hingga jaringan di bawah epidermis, tendon, otot, tulang, dan sendi. Ulkus diabetikum sering kali menjadi faktor utama amputasi dan kematian pada penderita DM [15]. Risiko munculnya ulkus diabetikum semakin tinggi apabila pasien DM telah mengalami iskemia, neuropati, dan infeksi. Iskemia menyebabkan gangguan aliran darah ke kaki karena penyempitan pembuluh darah. Gangguan motorik karena iskemia menyebabkan atrofi otot tungkai sehingga mengubah titik tumpu kaki yang menyebabkan ulserasi pada kaki penderita DM. Neuropati menyebabkan gangguan sensorik yang menghilangkan atau menurunkan sensasi nyeri pada kaki, sehingga ulkus dapat terjadi tanpa terasa [14]. Ulkus yang terbentuk akan mudah terinfeksi, infeksi ini utamanya disebabkan oleh bakteri *Clostridium perfringens* yang menghasilkan gas gangren yang menyebabkan kematian jaringan [16]. Kondisi iskemia yang terjadi sebelumnya akan menyebabkan infeksi menjadi sulit diatasi karena terhambatnya aliran darah menuju kaki yang menyebabkan transportasi antibiotik ke jaringan ulkus menjadi terganggu. Ulkus diabetikum yang terinfeksi akan berkembang menjadi gangren, yaitu luka pada daerah kaki yang berbau busuk dan berwarna merah kehitaman [17].

Proses penyembuhan luka melibatkan empat fase yaitu fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan maturasi (*remodelling*) [13]. Fase hemostasis merupakan fase pertama dalam proses penyembuhan luka, pada fase ini tubuh berusaha untuk menghentikan pendarahan yang terus-menerus. Pada fase inflamasi, sel inflamasi akan menjalankan proses kemotaksis dan menyekresikan *growth factor* untuk fibroblas yang berperan untuk perbaikan jaringan dan regenerasi sel [18]. Pada fase proliferasi terjadi peningkatan faktor-faktor penyembuhan ulkus seperti fibroblas yang akan menyekresikan kolagen tipe III saat berproliferasi, selain itu fibroblas juga akan menjadi miofibroblas yang berperan dalam kontraksi luka [13],[18]. Fase terakhir yaitu maturasi yang berlangsung lebih lama dibanding fase lainnya, pada fase ini kolagen tipe III akan berubah menjadi kolagen tipe I yang mana daya renggangnya lebih besar. Selain itu miofibroblas pada fase ini jumlahnya akan menurun karena terjadi apoptosis [18].

Proses penyembuhan ulkus pada penderita DM terjadi lebih lama karena kadar kolesterol total, *Low Density Lipoprotein* (LDL), dan trigliserida yang tinggi. Kondisi ini menyebabkan penumpukan lemak pada lumen pembuluh darah atau disebut aterosklerosis yang mengakibatkan respon imun berjalan lebih lambat dimana terjadi abnormalitas leukosit

sehingga fungsi kemotaksis di lokasi terbentuknya ulkus terganggu dan menyebabkan inflamasi yang berkepanjangan [19].

Sel fibroblas yang berasal dari mesenkim merupakan indikator untuk penyembuhan ulkus karena merupakan sel yang dominan dalam penyembuhan ulkus dan bertanggung jawab dalam menghasilkan matriks baru yang diperlukan untuk mengembalikan struktur dan fungsi pada jaringan ulkus [20]. Matriks fibrin yang dipenuhi platelet dan makrofag menghasilkan growth factor yang mengaktifasi fibroblas sebagai sel penghasil kolagen. Fibroblas kemudian bermigrasi ke daerah ulkus dan mulai berproliferasi, sehingga jumlahnya menjadi lebih dominan dibandingkan dengan sel-sel radang di area tersebut. Jumlah fibroblas mulai meningkat pada hari ke-3 atau ke-4 setelah luka muncul, dan akan terus bertambah hingga mencapai puncaknya pada hari ke-7 [14].

Glibenklamid, sering digunakan sebagai obat antidiabetes oral, bekerja menurunkan kadar glukosa darah dengan menstimulasi sekresi insulin. Obat ini berikatan dengan saluran kalium yang bergantung pada ATP (ATP-dependent potassium channel) di pankreas, menyebabkan penutupan saluran tersebut. Akibatnya, depolarisasi sel  $\beta$  pankreas terjadi, membuka saluran kalsium pada membran sel, memungkinkan ion kalsium masuk dan merangsang granula insulin untuk melepaskan insulin, yang pada akhirnya menurunkan kadar glukosa darah [5]. Efek samping yang ditimbulkan obat antidiabetes oral golongan sulfonilurea yaitu menyebabkan reaksi alergi pada kulit, hipoglikemia, kolestasis, anemia aplastik, dan anemia hemolitik. Hipoglikemia dapat menyebabkan penderita mengalami syok, kejang, koma, hingga kematian. Efek samping hipoglikemia yang fatal pada glibenklamid umumnya terjadi pada penderita DM usia lanjut yang telah lama mengonsumsi glibenklamid serta memiliki kelainan pada hepar dan ginjal [17].

Banyaknya efek samping dari penggunaan obat modern mendorong sebagian besar penderita diabetes mellitus (DM) untuk mencari pengobatan alternatif, salah satunya menggunakan tumbuhan mangrove. *Bruguiera gymnorhiza*, salah satu jenis mangrove, diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis yang mendukung pemulihan pada penderita DM, termasuk aktivitas antidiabetik, antioksidan, antiinflamasi, antihiperlipidemia, dan antimikroba [12]. Kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, dan saponin dalam tumbuhan ini berperan penting dalam mekanisme terapeutik. Flavonoid dalam daun *B. gymnorhiza* berperan sebagai antioksidan yang kuat, yang mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif yang dihasilkan oleh peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada kondisi hiperglikemia. Flavonoid juga memiliki kemampuan meregenerasi sel  $\beta$  pankreas yang rusak, sehingga memperbaiki fungsi pankreas dalam memproduksi insulin [21]. Selain itu, flavonoid merangsang aktivitas sel  $\beta$  untuk meningkatkan sekresi insulin, membantu mengurangi kadar glukosa darah [22]. Dengan demikian, flavonoid memiliki peran kunci dalam pemulihan fungsi pankreas dan pengelolaan diabetes pada model hewan uji. Selain flavonoid, tanin yang juga terkandung dalam *B. gymnorhiza* berfungsi sebagai antiinflamasi dan antioksidan yang dapat melindungi jaringan pankreas dari kerusakan lebih lanjut. Tanin membantu mempercepat penyembuhan luka dengan mengurangi peradangan dan memperbaiki struktur jaringan yang rusak, saponin yang terkandung dalam daun mangrove ini berperan penting dalam mempercepat penyembuhan luka, termasuk luka ulkus diabetikum, dengan cara meningkatkan pembentukan kolagen serta memberikan perlindungan antimikroba pada luka [23]. Pada model hewan uji, saponin diperkirakan membantu pemulihan jaringan melalui peningkatan proliferasi fibroblas dan produksi matriks ekstraseluler, yang memperkuat struktur dan integritas jaringan ulkus.

Penelitian Qelina *dkk* [24], dan Rahmawati *dkk* [25], potensi ekstrak kulit batang *B. gymnorhiza* dalam menyembuhkan luka sayat pada tikus putih (*Rattus norvegicus*), namun informasi mengenai potensi ekstrak daun *B. gymnorhiza* dalam pemulihan pankreas dan mengobati ulkus diabetikum masih sangat terbatas sehingga diperlukan penelitian untuk

membuktikan hal ini secara ilmiah. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun *B. gymnorrhiza* terhadap pemulihan pankreas penyembuhan ulkus yang diteliti dari jumlah sel fibroblas serta mengetahui pengaruh dosis ekstrak yang paling optimal dengan menggunakan hewan coba mencit yang dimodelkan diabetes melitus.

### **Metode Penelitian**

Penelitian berjenis eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 kelompok perlakuan dan 4 ulangan. Penelitian dilakukan selama 5 bulan mulai Desember 2022 hingga April 2023. Penanganan sampel ekstrak daun *B. gymnorrhiza* dan perlakuan mencit dengan induksi aloksan dilakukan di Laboratorium Hewan Coba, FMIPA, Universitas Negeri Surabaya. Pembuatan preparat histologi ulkus diabetikum dilakukan di Laboratorium Patofisiologi, FK, Universitas Airlangga. Pengamatan histologi preparat ulkus diabetikum dilakukan di Laboratorium Mikroteknik, FMIPA, Universitas Negeri Surabaya.

#### **a. Ekstraksi Daun *B. gymnorrhiza***

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi serbuk daun *B. gymnorrhiza* selama 3x24 jam. Bahan yang dibutuhkan adalah serbuk daun *B. gymnorrhiza* seberat 500 g dan alkohol 96% sebanyak 3500 mL. Alat yang digunakan meliputi baskom, kertas saring, gelas ukur 500 mL, neraca elektrik, dan rotary evaporator. Pada maserasi pertama, serbuk daun *B. gymnorrhiza* seberat 500 g dicampurkan dengan 1500 mL alkohol 96%. Pada maserasi kedua dan ketiga, masing-masing digunakan 1000 mL alkohol 96%. Filtrat yang dihasilkan dari proses maserasi kemudian dikentalkan dengan rotary evaporator sebelum dilarutkan dalam Na-CMC 1%. Larutan ekstrak daun *B. gymnorrhiza* dalam Na-CMC 1% disiapkan untuk membuat variasi dosis yang akan digunakan dalam penelitian. Na-CMC dipilih sebagai pelarut karena sifatnya yang mudah larut dalam air, memiliki viskositas yang stabil, serta resisten terhadap pertumbuhan mikroba [25].

#### **b. Persiapan Hewan Coba**

Persiapan hewan coba dilakukan dengan mengaklimasi mencit terlebih dahulu selama 7 hari. Bahan yang dibutuhkan meliputi 30 ekor mencit jantan galur Deutschland Denken Yoken (DDY) usia 2-3 bulan dengan berat  $\pm 30$  g, serbuk kayu, pakan mencit, dan air minum. Alat yang digunakan mencakup kandang mencit, wadah pakan, dan botol minum berukuran 50 mL. Mencit dipelihara di dalam kandang yang dilengkapi alas serbuk kayu, yang diganti setiap hari. Sebanyak lima mencit ditempatkan dalam dua kandang terpisah untuk menghindari persaingan yang dapat menyebabkan stres dan luka pada mencit. Pakan diberikan setiap hari sebanyak 5 g per ekor, sedangkan air minum disediakan secara ad libitum.

#### **c. Induksi Diabetes Melitus**

Induksi diabetes melitus pada mencit dilakukan dengan menggunakan aloksan. Bahan yang digunakan meliputi alloxan monohydrate 125 mg/kg BB dan sodium citrate buffer pH 4 0,1M. Alat yang digunakan adalah syringe 1 mL. Induksi diabetes dilakukan dengan menyuntikkan aloksan dosis 125 mg/kg BB secara intraperitoneal setelah dilarutkan dalam sodium citrate buffer pH 4 0,1M. Setelah 8 jam dari induksi aloksan, larutan gula 10% diberikan kepada mencit untuk mencegah hipoglikemia. Kelompok yang diinduksi aloksan meliputi kelompok dosis I, dosis II, dosis III, KP, dan K-, sedangkan kelompok KN tidak diinduksi aloksan [26].

#### **d. Pembuatan Ulkus**

Bahan yang dibutuhkan dalam pembuatan ulkus pada mencit adalah kloroform, alkohol 70%, dan kapas. Alat yang digunakan adalah scalpel, gunting bedah, pinset, dan wadah

tertutup. Pada saat pembuatan ulkus, mencit pada setiap kelompok perlakuan dibius menggunakan kloroform dengan metode inhalasi melalui rongga hidung selama 5-10 detik. Proses pembiusan menggunakan kloroform ini tidak boleh terlalu lama karena jika terlalu lama mencit dikhawatirkan akan mati. Selanjutnya rambut pada bagian dorsal mencit dibersihkan menggunakan gunting bedah agar mempermudah ketika pembuatan ulkus. Ulkus dibuat pada bagian dorsal mencit sepanjang 1 cm menggunakan pisau bedah dan gunting [27]. Sebelum pembuatan ulkus, alat bedah seperti gunting dan pisau terlebih dulu disterilkan menggunakan alkohol 70%. Bagian kulit yang akan dibuat ulkus juga disterilkan menggunakan alkohol 70% untuk menghindari kontaminasi bakteri pada jaringan ulkus.

**e. Pemberian Ekstrak Daun *B. gymnorrhiza***

Bahan yang dibutuhkan adalah ekstrak daun *B. gymnorrhiza* yang telah diencerkan dalam Na-CMC 1%. Alat yang digunakan adalah *syringe* 1 mL dan jarum sonde. Ekstrak daun *B. gymnorrhiza* diberikan per oral pada kelompok mencit dosis I, dosis II, dan dosis III. Mencit yang diberikan ekstrak adalah mencit dengan kadar glukosa darah puasa >126 mg/dL. Pada kelompok dosis I, mencit diberikan ekstrak daun *B. gymnorrhiza* dengan dosis 42 mg/kg BB. Kelompok dosis II diberikan ekstrak dengan dosis 84 mg/kg BB. Kelompok dosis III diberikan ekstrak dengan dosis 126 mg/kg BB. Pemberian ekstrak pada kelompok dosis I, II, dan III dilakukan selama 21 hari. Kelompok KP diberikan glibenklamid dengan dosis 0,0195 mg/kg BB.

**f. Pembuatan Preparat Histologi Pankreas dan Ulkus Diabetikum**

Proses pembuatan preparat histologi untuk jaringan ulkus mencakup kloroform, NBF 10%, etanol (70%, 80%, 90%, *absolute*), *xylol*, entelan, parafin, albumin-gliserin, dan pewarna hematoksilin-eosin. Alat yang digunakan adalah gunting bedah, scalpel, gelas beaker, inkubator, *object glass*, dan *cover glass*. Mencit pada setiap kelompok perlakuan diambil secara acak pada hari ke-7 dan 14 pengaplikasian ekstrak daun *B. gymnorrhiza*, kemudian dilakukan euthanasia pada mencit tersebut menggunakan kloroform dengan metode inhalasi melalui rongga hidung dan dilakukan pembedahan organ dan penyayatan pada daerah ulkus kemudian difiksasi menggunakan NBF 10%. Organ pancreas dan jaringan ulkus yang telah difiksasi kemudian dibuat preparat dengan metode parafin yang dilanjutkan dengan proses pewarnaan *Hematoxyline-Eosin* (HE). Pembuatan preparat parafin untuk jaringan ulkus dimulai dengan proses *washing* menggunakan etanol 70%, dan dilanjutkan proses dehidrasi menggunakan etanol bertingkat (70%, 80%, 90%, *absolute* 2x) masing-masing selama 30 menit. Proses *clearing* dilakukan dengan menggunakan *xylol* dengan perbandingan 3:1, 1:1, 3:*xylol* murni masing-masing selama 30 menit. Proses infiltrasi dilakukan dengan menggunakan parafin cair. Proses *embedding* dilakukan dengan menggunakan blok parafin. Proses pemotongan dilakukan dengan alat *rotary microtome* dengan ketebalan 3-4 mikrometer, kemudian hasil potongan ditempelkan pada kaca obyek dan diolesi albumin-gliserin (37-38)°C. Selanjutnya dilakukan pengeringan pada suhu 35°C. Proses pewarnaan dilakukan dengan menggunakan *Hematoxyline-Eosin* (HE).

**g. Pengamatan Preparat Histologi Pankreas dan Ulkus**

Pengamatan preparat histologi pankreas dan ulkus diabetikum untuk penghitungan jumlah fibroblas dilakukan dengan menggunakan mikroskop perbesaran 400x pada 3 lapang pandang setiap ulangan [14], dengan pengamatan dilakukan pada hari ke-7 dan 14.

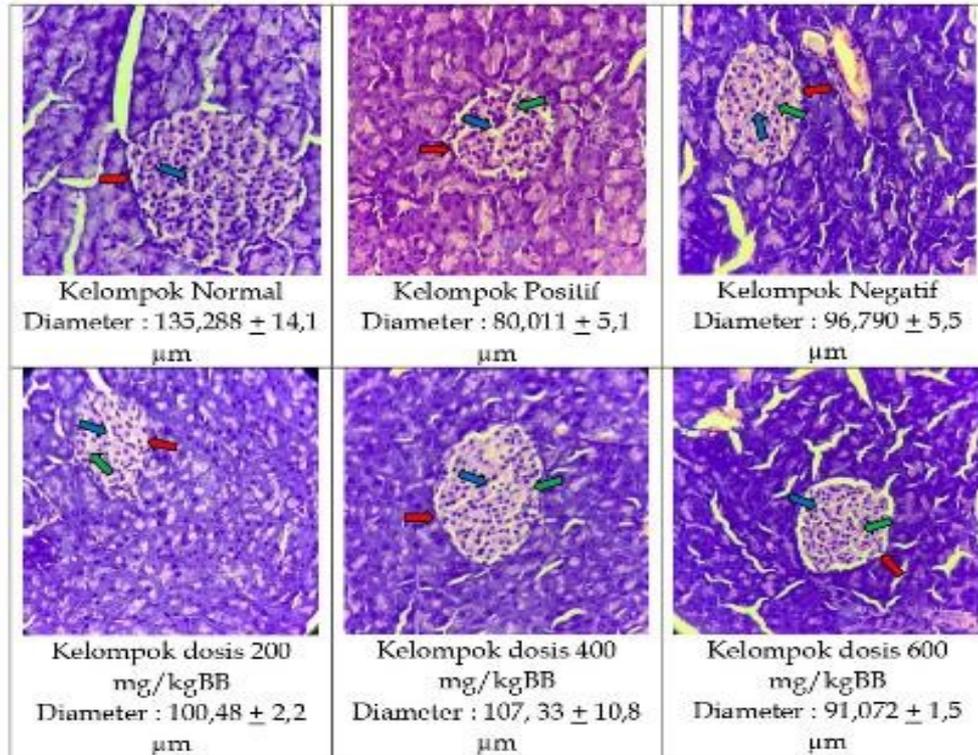
**h. Analisis Data**

Data jumlah sel fibroblas dianalisis menggunakan *software* R studio. Uji normalitas menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk*, kemudian dilakukan uji homogenitas dengan

*Levene's Test*. Data jumlah sel fibroblas kemudian dianalisis dengan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* metode *Dunn-Bonferroni*.

### Hasil dan Pembahasan

Hasil pengamatan preparat histopatologi pankreas dan rerata diameter pulau Langerhans pankreas dengan perbesaran 400x ditampilkan pada gambar 1.



**Gambar 1.** Gambaran histopatologi pankreas dibawah mikroskop perbesaran 400x, Keterangan: (→) Batas pulau Langerhans, (→) Ruang kosong antar sel, (→) Bentuk sel tidak normal.

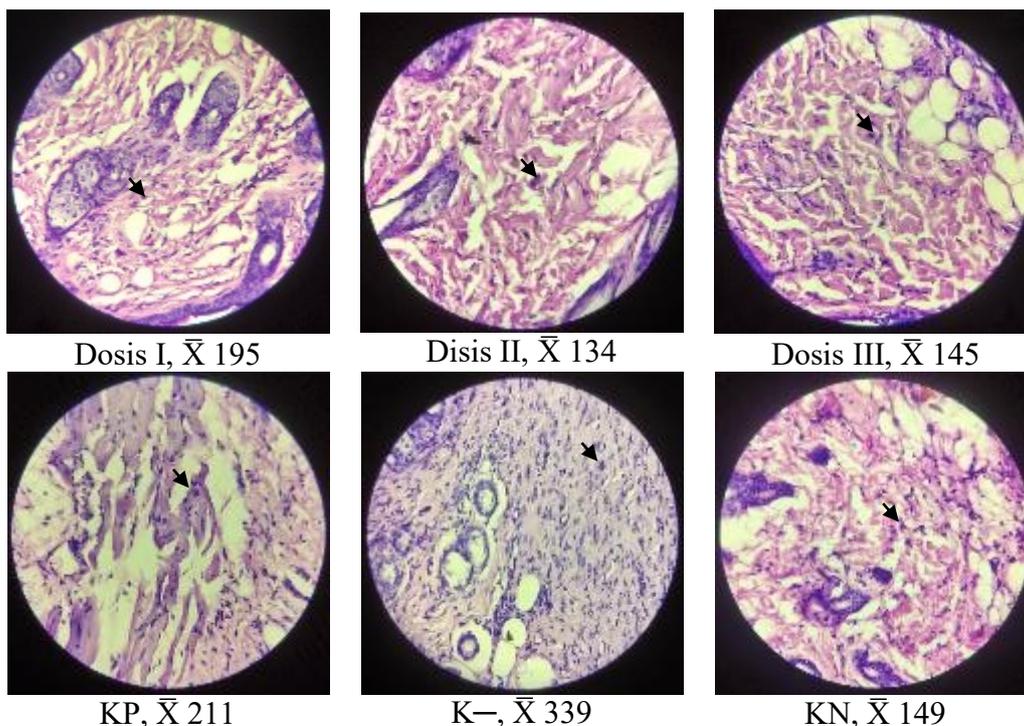
Hasil penghitungan rerata diameter pulau Langerhans pankreas pada hari ke-21, menunjukkan bahwa kelompok normal memiliki rerata tertinggi sebesar 135,288. Sedangkan kelompok positif memiliki rerata yang paling rendah sebesar 80,011. Pada penghitungan rerata diameter pulau Langerhans pankreas, kelompok normal masih menjadi kelompok dengan rerata tertinggi yaitu sebesar 135,288 dan kelompok positif memiliki rerata terendah sebesar 80,011.

Pengamatan pada kelompok mencit yang diberi perlakuan memiliki hasil yang berbeda. Pulau Langerhans mudah ditemukan, terlihat adanya keteraturan susunan sel yang menyebar di pulau Langerhans dengan bentuk sel yang seragam dan ukuran sitoplasma terlihat proporsional terhadap besar inti serta tidak mengalami perubahan struktur morfologi pankreas. Pengamatan pada kelompok kontrol positif terlihat adanya kerusakan pada jaringan pankreas. Terdapat adanya ruang ruang kosong yang disebut juga vakuolisasi. Tikus yang diinduksi aloksan akan mengalami penurunan jumlah pulau Langerhans. Pemberian perlakuan ekstrak daun *B. gymnorrhiza* menunjukkan adanya perbaikan kondisi pankreas pada mencit diabetes apabila dibandingkan dengan kelompok mencit yang tanpa pemberian ekstrak [28]. Perbaikan tersebut meliputi pulau Langerhans yang mulai melakukan regenerasi menuju bentuk normal, walaupun masih mengalami vakuolisasi tetapi jumlahnya lebih sedikit bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.

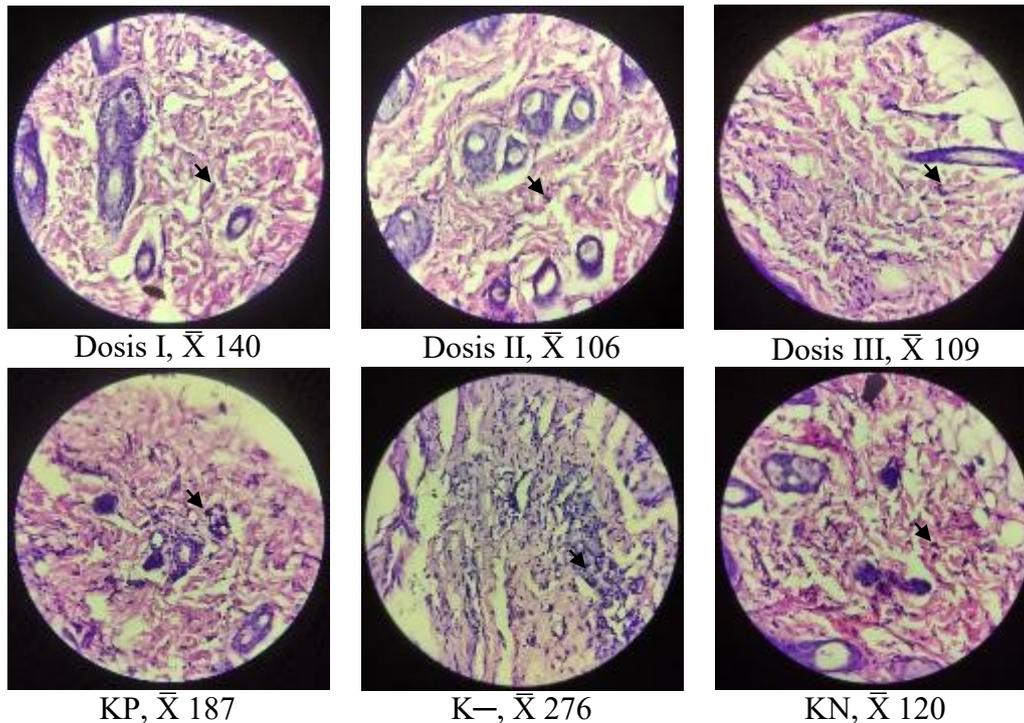
Dari hasil pengamatan, ukuran diameter kelompok normal lebih besar dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Ini dikarenakan setiap kelompok perlakuan diinduksi aloksan kecuali kelompok normal dan pulau Langerhans kelompok yang diinduksi aloksan terlihat lebih kecil daripada kelompok normal yang tidak diinduksi aloksan. Terjadi perubahan morfologi pankreas yaitu terlihat kerusakan yang relatif berat yang ditandai dengan ruang kosong hingga mencapai setengah dari Pulau Langerhans, hal ini membuktikan bahwa aloksan merupakan agen diabetogenik yang dapat menimbulkan kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas melalui pembentukan ROS sehingga terjadi nekrosis sel  $\beta$  yang ditandai dengan adanya ruang kosong pada Pulau Langerhans[29].

Ekstrak daun *Brugueira gymnorrhiza* memiliki kandungan fitokimia yang dapat menjadi antioksidan pada tubuh. Senyawa antioksidan memiliki peranan penting dalam tubuh khususnya pada pankreas [25]. Antioksidan memiliki kemampuan dalam memperbaiki sel beta pankreas yang rusak diakibatkan oleh ROS. Antioksidan yang tinggi mampu menurunkan oksidan pada sel  $\beta$  pankreas tikus penderita DM, dan dapat meregenerasi jaringan pankreas sekaligus memperbaiki pulau Langerhans. Kandungan pada daun *Bruguiera gymnorrhiza* yaitu flavonoid meningkatkan kapasitas antioksidan sel beta dengan meningkatkan antioksidan enzimatis (misalnya, katalase, glutathione peroksidase, glutathione S transferase, superoksida dismutase) dan non-enzimatis (misalnya, glutathione tereduksi). Peningkatan antioksidan menghambat akumulasi ROS dan peroksidasi lipid dalam sel beta dan karena itu melindunginya dari autofagi, apoptosis, atau necroptosis [30].

Jumlah sel fibroblas ulkus mencit setelah perlakuan ekstrak daun *B. gymnorrhiza* adalah banyaknya sel berbentuk fusiform dengan inti yang memanjang dan berwarna biru keunguan yang diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Profil sel fibroblas jaringan ulkus diabetikum mencit pada hari ke-7 (gambar 2) dan ke-14 (gambar 3).



**Gambar 2.** Profil Sel Fibroblast Jaringan Ulkus Hari Ke-7, Keterangan: (➔) Sel Fibroblast (400X). Dosis I (42 mg/kg BB), dosis II (84 mg/kg BB), dosis III (126 mg/kg BB), KP (perlakuan obat glibenklamid), K- (induksi aloksan), KN (kelompok normal tanpa perlakuan).



**Gambar 2.** Profil Sel Fibroblast Jaringan Ulkus Hari Ke-7, Keterangan: (➔) Sel Fibroblast (400X). Dosis I (42 mg/kg BB), dosis II (84 mg/kg BB), dosis III (126 mg/kg BB), KP (perlakuan obat glibenklamid), K- (induksi aloksan), KN (kelompok normal tanpa perlakuan).

Rerata jumlah sel fibroblas ulkus mencit pada hari ke-7 dan 14 perlakuan ekstrak ditampilkan pada tabel 1, dimana hasil penghitungan rerata jumlah fibroblast, pada hari ke-7, menunjukkan bahwa kelompok K- memiliki rerata tertinggi sebesar 339,5. Sedangkan kelompok dosis II memiliki rerata yang paling rendah sebesar 134. Pada penghitungan rerata jumlah fibroblast hari ke-14, kelompok K- masih menjadi kelompok dengan rerata tertinggi yaitu sebesar 276 dan kelompok dosis II memiliki rerata terendah sebesar 106,75.

**Tabel 1.** Rerata jumlah fibroblas ulkus diabetikum mencit setelah pemberian ekstrak daun *B. gymnorrhiza*

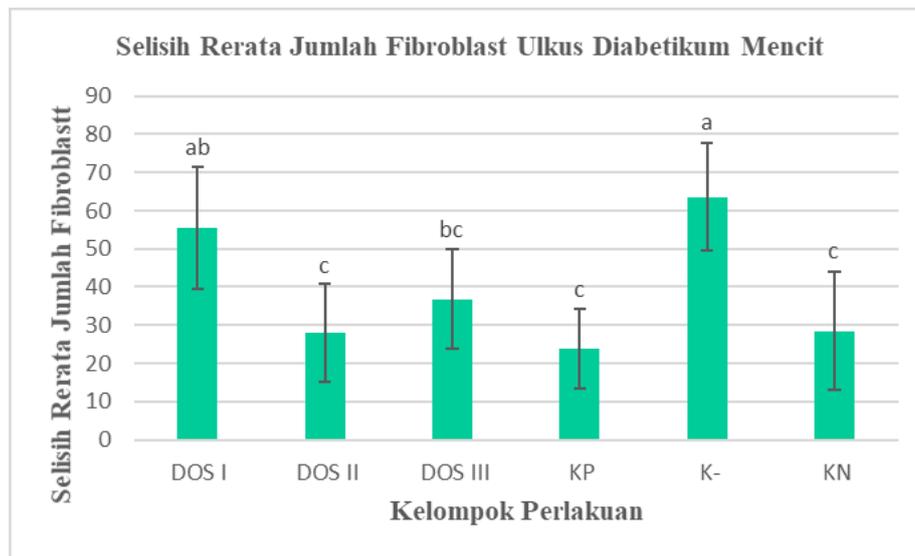
Perlakuan	Rerata Jumlah Fibroblast Jaringan Ulkus	
	Hari ke-7	Hari ke14
Dosis I	195,75±22,47 <sup>b</sup>	140,25±9,84 <sup>c</sup>
Dosis II	134,75±10,9 <sup>c</sup>	106,75±6,18 <sup>d</sup>
Dosis III	145,75±6,08 <sup>c</sup>	109±10,58 <sup>d</sup>
KP	211,5±9,4 <sup>b</sup>	187,75±6,7 <sup>b</sup>
K-	339,5±10,6 <sup>a</sup>	276±22,54 <sup>a</sup>
KN	149,25±11,12 <sup>c</sup>	120,75±9,46 <sup>d</sup>

Keterangan: signifikan ( $p \leq 0,05$ ) berdasarkan hasil uji *Dunn-Bonferroni*

Uji normalitas *Shapiro-Wilk* rerata jumlah fibroblast ulkus diabetikum mencit pada hari ke-7 menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi normal dengan nilai  $p=0,0003$  ( $<0,05$ ). Uji beda *Kruskal-Wallis* menunjukkan adanya beda signifikan rerata jumlah fibroblast dengan *p value* sebesar 0,001 ( $<0,05$ ). Hasil uji *Dunn-Bonferroni* pada data hari ke-7 menunjukkan adanya perbedaan signifikan ( $p \leq 0,05$ ) pada rerata jumlah fibroblast kelompok dosis II terhadap kelompok dosis I, KP, dan K-, namun tidak menunjukkan adanya perbedaan signifikan

terhadap kelompok dosis III dan KN ( $p > 0,05$ ). Rerata kelompok K- menunjukkan perbedaan signifikan ( $p \leq 0,05$ ) terhadap kelompok dosis I, dosis II, dosis III, KP, dan KN ( $p > 0,05$ ).

Uji normalitas *Shapiro-Wilk* pada data rerata jumlah fibroblast ulkus diabetikum mencit hari ke-14 menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi normal dengan nilai  $p = 0,00074$  ( $p < 0,05$ ). Uji beda *Kruskal-Wallis* dengan nilai  $p = 0,00097$  ( $p < 0,05$ ) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun *Bruguiera gymnorrhiza* berbeda signifikan terhadap jumlah fibroblast ulkus mencit. Uji lanjutan *Dunn-Bonferroni* menunjukkan bahwa rerata kelompok dosis II berbeda signifikan ( $p \leq 0,05$ ) terhadap kelompok dosis I, KP, dan K-, namun tidak berbeda signifikan terhadap kelompok dosis III dan KN ( $p > 0,05$ ). Kelompok K- berbeda nyata ( $p \leq 0,05$ ) terhadap kelompok dosis I, dosis II, dosis III, KP, dan KN. Perbedaan selisih rerata jumlah fibroblas ulkus diabetikum mencit pada hari ke-7 dan 14 disajikan pada gambar 3.



**Gambar 3.** Perbedaan selisih rerata jumlah fibroblast ulkus diabetikum mencit pada hari ke-7 dan 14 perlakuan ekstrak daun *B. gymnorrhiza*. DOS I (42 mg/kg BB), DOS II (84 mg/kg BB), DOS III (126 mg/kg BB), KP (perlakuan obat glibenklamid), K- (induksi aloksan), KN (kelompok normal tanpa perlakuan).

Selisih rerata jumlah fibroblast ulkus diabetikum mencit pada hari ke-7 dan 14 (gambar 3), menunjukkan bahwa kelompok dosis I memiliki selisih rerata sebesar 55,5; kelompok dosis II sebesar 28; kelompok dosis III sebesar 36,75; kelompok KP sebesar 23,75; kelompok K- sebesar 63,5; dan kelompok KN sebesar 28,5. Dari hasil tersebut diketahui bahwa kelompok K- memiliki selisih rerata jumlah fibroblast yang paling besar dibandingkan kelompok lainnya, sedangkan kelompok KP memiliki selisih jumlah fibroblast yang paling kecil.

Uji normalitas *Shapiro-Wilk* data selisih rerata jumlah fibroblast hari ke-7 dan 14 menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dengan nilai  $p = 0,58$  ( $p > 0,05$ ). Uji homogenitas menunjukkan bahwa data memiliki varian homogen dengan nilai  $p = 0,94$  ( $p > 0,05$ ). Hasil uji *Analysis of Variances* (ANOVA) menunjukkan adanya perbedaan nyata pada selisih rerata jumlah fibroblast hari ke-7 dan 14 dengan nilai  $p = 0,0026$  ( $p < 0,05$ ). Hasil uji lanjut *Duncan* data selisih rerata jumlah fibroblast hari ke-7 dan 14 menunjukkan adanya perbedaan signifikan ( $p \leq 0,05$ ) pada rerata kelompok K- terhadap kelompok dosis II, dosis III, KP, dan KN, namun tidak menunjukkan adanya perbedaan signifikan ( $p > 0,05$ ) terhadap kelompok dosis I.

Sel fibroblast berasal dari sel mesenkim yang merupakan indikator untuk penyembuhan ulkus karena merupakan sel yang dominan dalam penyembuhan ulkus dan bertanggung jawab dalam menghasilkan matriks baru yang diperlukan untuk mengembalikan struktur dan fungsi pada jaringan ulkus [20]. Sel fibroblast aktif bekerja menghasilkan kolagen pada fase

proliferasi yang berlangsung dari hari ke-4 hingga ke-14 setelah munculnya luka, jumlah fibroblast akan meningkat terus hingga hari ke-7 dan kemudian akan turun setelahnya hingga akhir fase proliferasi pada hari ke-14. Penurunan jumlah fibroblast ini merupakan indikator yang baik untuk menentukan apakah ada kemajuan dalam proses penyembuhan ulkus. Matriks fibrin yang dipenuhi platelet dan makrofag menghasilkan *growth factor* yang mengaktifasi fibroblast sebagai sel penghasil kolagen. Fibroblast bermigrasi ke daerah ulkus dan mulai berproliferasi sehingga jumlahnya lebih dominan dibandingkan sel radang pada daerah [20].

Pada kelompok K- jumlah fibroblast pada hari ke-14 masih cukup tinggi jika dibandingkan dengan kelompok lainnya. Hal ini berkaitan dengan kondisi DM pada kelompok tersebut yang menyebabkan proses penyembuhan ulkus berjalan lebih lambat karena struktur jaringan kulit, saraf, pembuluh darah, dan jaringan pendukung lainnya telah rusak sehingga kontrol glukosa darah tidak lagi cukup untuk memperbaiki kondisi tersebut [31], [32].

Pada kelompok perlakuan ekstrak daun *B. gymnorrhiza* dosis II (84 mg/kg BB), dosis III (126 mg/kg BB), dan KN rerata jumlah fibroblast pada hari ke-14 tidak berbeda signifikan, sedangkan kelompok K- berbeda signifikan terhadap kelompok dosis I (42 mg/kg BB), dosis II (84 mg/kg BB), dosis III (126 mg/kg BB), KP, dan KN. Berdasarkan gambar 2 terkait selisih rerata jumlah fibroblast pada hari ke-7 dan 14, kelompok K- memiliki selisih yang paling besar jika dibandingkan kelompok lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok K- mengalami penurunan jumlah fibroblast yang paling banyak. Namun, rerata jumlah fibroblast kelompok K- pada hari ke-14 masih merupakan yang tertinggi dibanding kelompok lainnya. Hal ini berarti kelompok K- masih mengalami fase proliferasi dimana fibroblast masih aktif dalam menyekresikan kolagen tipe III dan akan menjadi miofibroblast yang berperan dalam kontraksi luka [18]. Jumlah fibroblast mulai mengalami peningkatan pada hari ke-3 atau ke-4 setelah timbulnya luka, kemudian akan terus meningkat dan mencapai puncaknya pada hari ke-7 [20]. Jumlah fibroblast setelah hari ke-7 akan mengalami penurunan akibat proses apoptosis karena jaringan ulkus sudah tidak lagi memerlukan kolagen tipe III yang dibentuk oleh sel fibroblast dan akan memasuki fase maturasi (*remodelling*) [18].

Senyawa metabolit sekunder yang ada dalam *B. gymnorrhiza* seperti flavonoid, tanin, dan saponin diduga juga memiliki pengaruh dalam penyembuhan ulkus. Flavonoid memiliki aktivitas antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, dan penyembuhan luka [33]. Kandungan flavonoid dapat menghentikan pendarahan pada luka dan meningkatkan aktivitas vitamin C sebagai antioksidan [23]. Flavonoid juga bermanfaat untuk melindungi sel [34], meningkatkan vaskularisasi dan menurunkan oedema karena khasiatnya sebagai antiinflamasi dan antioksidan sehingga dapat memperpendek waktu inflamasi yang terjadi [35]. Kandungan tanin mempercepat penyembuhan luka melalui beberapa mekanisme, seperti membersihkan radikal bebas dan oksigen reaktif, meningkatkan pembentukan fibroblast dan pembuluh darah kapiler sehingga mempercepat penutupan luka [20]. Saponin memiliki kemampuan membersihkan atau antiseptik dan memicu *vascular endothelial growth factor* (VEGF) serta meningkatkan jumlah makrofag yang bermigrasi ke luka sehingga meningkatkan produksi sitokin yang mengaktifkan fibroblast pada jaringan luka [36].

Penurunan jumlah sel fibroblast menunjukkan bahwa terdapat pengaruh dari pemberian ekstrak daun *B. gymnorrhiza* terhadap penyembuhan ulkus diabetikum pada mencit. Berdasarkan perhitungan rerata jumlah fibroblast ulkus pada hari ke-14, kelompok dosis II dan dosis III merupakan yang paling rendah dibanding kelompok lainnya yang artinya kedua kelompok dosis ini telah berada di fase akhir proliferasi dan akan memasuki fase maturasi [18].

## Kesimpulan

Pemberian ekstrak daun *B. gymnorrhiza* dengan dosis yang berbeda berpengaruh secara signifikan terhadap penyembuhan ulkus diabetikum pada hari ke-14 yang diteliti dari jumlah sel fibroblas dengan nilai  $p=0,00097$  ( $p<0,05$ ). Perlakuan yang memberikan pengaruh paling

optimal terhadap penyembuhan ulkus mencit diabetes ditunjukkan oleh pemberian ekstrak daun *B. gymnorrhiza* dosis II (84 mg/kg BB) dan dosis III (126 mg/kg BB). Dengan demikian, daun *B. gymnorrhiza* berpotensi sebagai bahan obat herbal untuk diabetes melitus dan penyembuhan ulkus diabetikum.

#### Daftar Pustaka

- [1] F. Az-zahro, E. Kristinawati, dan Z. Fikri, “Hubungan Antara Kandidiasis Pada urine Wanita Penderita Diabetes Mellitus Dengan Nilai Positivitas Glukosuria Di Wilayah Kerja Puskesmas Narmada,” *J. Anal. Med. Biosains JAMBS*, vol. 8, no. 2, hlm. 92, Sep 2021, doi: [10.32807/jambs.v8i2.239](https://doi.org/10.32807/jambs.v8i2.239).
- [2] B. Widaryanti, N. Khikmah, dan N. Sulistyani, “Efek Rebusan Sereh (*Cymbopogon citratus*) Terhadap Respon Stress Oksidatif Pada Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) Diabetes,” *Life Sci.*, vol. 10, no. 2, hlm. 173–181, Nov 2021, doi: [10.15294/lifesci.v10i2.54457](https://doi.org/10.15294/lifesci.v10i2.54457).
- [3] Z. Midah, F. Fajriansyah, A. Makmun, dan R. Rasfahyana, “Hubungan Obesitas dan Stress Oksidatif,” *UMI Med. J.*, vol. 6, no. 1, hlm. 62–69, Jun 2021, doi: [10.33096/umj.v6i1.140](https://doi.org/10.33096/umj.v6i1.140).
- [4] D. A. Candri, H. Ahyadi, S. K. Riandinata, dan A. Virgota, “Analisis Persentase Tutupan Terumbu Karang Gili Tangkong, Sekotong Kabupaten Lombok Barat,” *BioWallacea*, vol. 5, no. 1, hlm. 29–35, Apr 2019, doi: [10.29303/biowal.v5i1.106](https://doi.org/10.29303/biowal.v5i1.106).
- [5] D. E. Mawali, R. Choesrina, dan L. Mulqie, “Uji Antidiabetes Ekstrak Kulit Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* (Nees & T.Nees) Blume) dengan Metode Resistensi Insulin pada Mencit Swiss Webster Jantan yang Diinduksi Emulsi Tinggi Lemak,” *Bdg. Conf. Ser. Pharm.*, hlm. 305–314, Sep 2023, doi: [10.29313/bcsp.v3i2.8570](https://doi.org/10.29313/bcsp.v3i2.8570).
- [6] M. L. Urso dan P. M. Clarkson, “Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation,” *Toxicology*, vol. 189, no. 1–2, hlm. 41–54, Jul 2003, doi: [10.1016/S0300-483X\(03\)00151-3](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00151-3).
- [7] P. S. Leung, “Overview of the Pancreas,” dalam *The Renin-Angiotensin System: Current Research Progress in The Pancreas*, vol. 690, dalam *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 690, Dordrecht: Springer Netherlands, 2010, hlm. 3–12. doi: [10.1007/978-90-481-9060-7\\_1](https://doi.org/10.1007/978-90-481-9060-7_1).
- [8] P. S. Lim, A. Patil, dan A. Sashankar, “The pancreas,” *Anaesth. Intensive Care Med.*, vol. 24, no. 10, hlm. 644–649, Okt 2023, doi: [10.1016/j.mpaic.2023.07.006](https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2023.07.006).
- [9] S. H. Bharmal, S. A. Pendharkar, R. G. Singh, M. O. Goodarzi, S. J. Pandol, dan M. S. Petrov, “Relationship between circulating levels of pancreatic proteolytic enzymes and pancreatic hormones,” *Pancreatology*, vol. 17, no. 6, hlm. 876–883, Nov 2017, doi: [10.1016/j.pan.2017.09.007](https://doi.org/10.1016/j.pan.2017.09.007).
- [10] M. Farid, E. Darwin, dan D. Sulastri, “Pengaruh Hiperglikemia terhadap Gambaran Histopatologis Pulau Langerhans Mencit,” *J. Kesehat. Andalas*, vol. 3, no. 3, Sep 2014, doi: [10.25077/jka.v3i3.162](https://doi.org/10.25077/jka.v3i3.162).
- [11] W. A. Chandradevi, M. Avesina, D. P. Anggriyawanti, dan E. R. Purnama, “Pemanfaatan Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Pemulihan Struktur Pankreas Mencit Diabetik,” *Biotropic J. Trop. Biol.*, vol. 2, no. 2, hlm. 85–92, Agu 2018, doi: [10.29080/biotropic.2018.2.2.85-92](https://doi.org/10.29080/biotropic.2018.2.2.85-92).
- [12] P. Chandra, Enespa, R. Singh, dan P. K. Arora, “Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review,” *Microb. Cell Factories*, vol. 19, no. 1, hlm. 169, Des 2020, doi: [10.1186/s12934-020-01428-8](https://doi.org/10.1186/s12934-020-01428-8).
- [13] M. D. Boudreau, H. W. Taylor, D. G. Baker, dan J. C. Means, “Dietary Exposure to 2-Aminoanthracene Induces Morphological and Immunocytochemical Changes in

- Pancreatic Tissues of Fisher-344 Rats,” *Toxicol. Sci.*, vol. 93, no. 1, hlm. 50–61, Sep 2006, doi: [10.1093/toxsci/kfl033](https://doi.org/10.1093/toxsci/kfl033).
- [14] S. Patoding dan A. Anatasya, “Hubungan Pengetahuan Merawat Luka Dengan Kejadian Ulkus Diabetikum Pada Kaki Penderita Diabetes,” *Mega Buana J. Nurs.*, vol. 1, no. 2, hlm. 46–50, Sep 2022, doi: [10.59183/mbjn.v1i2.13](https://doi.org/10.59183/mbjn.v1i2.13).
- [15] S. Sakdiah, H. Milzam, dan R. Roziana, “Uji efektivitas salep ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.) terhadap penyembuhan luka bakar derajat iii pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain wistar,” *J. Kedokt. Syiah Kuala*, vol. 21, no. 3, Des 2021, doi: [10.24815/jks.v21i3.23041](https://doi.org/10.24815/jks.v21i3.23041).
- [16] O. Desalu, F. Salawu, A. Jimoh, A. Adekoya, O. Busari, dan A. Olokoba, “Diabetic foot care: Self reported knowledge and practice among patients attending three tertiary hospital in Nigeria,” *Ghana Med. J.*, vol. 45, no. 2, Agu 2011, doi: [10.4314/gmj.v45i2.68930](https://doi.org/10.4314/gmj.v45i2.68930).
- [17] R. L. Roza, R. Afriant, dan Z. Edward, “Faktor Risiko Terjadinya Ulkus Diabetikum pada Pasien Diabetes Mellitus yang Dirawat Jalan dan Inap di RSUP Dr. M. Djamil dan RSI Ibnu Sina Padang,” *J. Kesehat. Andalas*, vol. 4, no. 1, Jan 2015, doi: [10.25077/jka.v4i1.229](https://doi.org/10.25077/jka.v4i1.229).
- [18] H. Humaryanto dan A. O. Rahman, “Effect of Green Coffee Beans Extract Ointments for Wound Healing,” *J. Kedokt. Brawijaya*, vol. 30, no. 3, hlm. 169–174, Feb 2019, doi: [10.21776/ub.jkb.2019.030.03.1](https://doi.org/10.21776/ub.jkb.2019.030.03.1).
- [19] R. H. Lestari, M. Rusdy, Sema, dan S. Hasan, “Effect of Liquid Organic Fertilizer and Defoliation Interval on Growth Characteristics and Quality of Elephant Grass CV.Taiwan,” *Int. J. Sci. Res. Publ. IJSRP*, vol. 8, no. 10, Okt 2018, doi: [10.29322/IJSRP.8.10.2018.p8208](https://doi.org/10.29322/IJSRP.8.10.2018.p8208).
- [20] R. Diegelmann F., “Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing,” *Front. Biosci.*, vol. 9, no. 1–3, hlm. 283, 2004, doi: [10.2741/1184](https://doi.org/10.2741/1184).
- [21] R. Dheer dan P. Bhatnagar, “A study of the antidiabetic activity of *Barleria prionitis* Linn,” *Indian J. Pharmacol.*, vol. 42, no. 2, hlm. 70, 2010, doi: [10.4103/0253-7613.64493](https://doi.org/10.4103/0253-7613.64493).
- [22] A. Fatiqin, H. Amrulloh, W. Simanjuntak, I. Apriani, H.T. Amelia, Syarifah, R. N. Sunarti, A. R. P Raharjeng, “Characteristics of nano-size MgO prepared using aqueous extract of different parts of *Moringa oleifera* plant as green synthesis agents,” hlm. 040001, 2021, doi: [10.1063/5.0041999](https://doi.org/10.1063/5.0041999).
- [23] I. B. Januarti, R. Wijayanti, S. Wahyuningsih, dan Z. Nisa, “Potensi Ekstrak Terpurifikasi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Sebagai Antioksidan Dan Antibakteri,” *JPSCR J. Pharm. Sci. Clin. Res.*, vol. 4, no. 2, hlm. 60, Nov 2019, doi: [10.20961/jpscr.v4i2.27206](https://doi.org/10.20961/jpscr.v4i2.27206).
- [24] L. Qelina, S. Rahmanisa, dan R. Oktarlina, “The Effect of Giving Mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza*) Extract When Proses of Healing Wounds in Male Rats (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar,” vol. 10, no. 1, hlm. 68–73, 2021.
- [25] R. Rahmawati, T. Nurhayati, dan N. Nurjanah, “Potensi Ekstrak Daun Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*,” *J. Pascapanen Dan Bioteknol. Kelaut. Dan Perikan.*, vol. 18, no. 2, hlm. 89, Jan 2024, doi: [10.15578/jpbkp.v18i2.933](https://doi.org/10.15578/jpbkp.v18i2.933).
- [26] S. N. Mohsin, F. Saleem, A. Humayun, A. Tanweer, dan A. Muddassir, “Prospective Nutraceutical Effects of Cinnamon Derivatives Against Insulin Resistance in Type II Diabetes Mellitus—Evidence From the Literature,” *Dose-Response*, vol. 21, no. 3, hlm. 15593258231200527, Jul 2023, doi: [10.1177/15593258231200527](https://doi.org/10.1177/15593258231200527).
- [27] E. E. Safani, W. A. C. Kunharjito, A. Lestari, dan E. R. Purnama, “Potensi Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Sebagai Spray Untuk Pemulihan Luka Mencit

- Diabetik Yang Terinfeksi *Staphylococcus aureus*,” *Biotropic J. Trop. Biol.*, vol. 3, no. 1, hlm. 68–78, Feb 2019, doi: [10.29080/biotropic.2019.3.1.68-78](https://doi.org/10.29080/biotropic.2019.3.1.68-78).
- [28] Sukardiman dan M. Ervina, “The recent use of *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq. as antidiabetes type 2 phytomedicine: A systematic review,” *Heliyon*, vol. 6, no. 3, hlm. e03536, Mar 2020, doi: [10.1016/j.heliyon.2020.e03536](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03536).
- [29] S. A. Abadi, Z. Illiyyin, J. R. Rachmadina, dan D. M. Malini, “The effect of jengkol (*Archidendron pauciflorum*) fruit peel ethanolic extract to heart histologic of rat induced by streptozotocin,” *Biofarmasi J. Nat. Prod. Biochem.*, vol. 16, no. 2, hlm. 59–63, Agu 2018, doi: [10.13057/biofar/fl60201](https://doi.org/10.13057/biofar/fl60201).
- [30] A. Ghorbani, R. Rashidi, dan R. Shafiee-Nick, “Flavonoids for preserving pancreatic beta cell survival and function: A mechanistic review,” *Biomed. Pharmacother.*, vol. 111, hlm. 947–957, Mar 2019, doi: [10.1016/j.biopha.2018.12.127](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.127).
- [31] F. N. Rosyid, “Etiology, pathophysiology, diagnosis and management of diabetics’ foot ulcer,” *Int. J. Res. Med. Sci.*, vol. 5, no. 10, hlm. 4206, Sep 2017, doi: [10.18203/2320-6012.ijrms20174548](https://doi.org/10.18203/2320-6012.ijrms20174548).
- [32] T. Wild, A. Rahbarnia, M. Kellner, L. Sobotka, dan T. Eberlein, “Basics in nutrition and wound healing,” *Nutrition*, vol. 26, no. 9, hlm. 862–866, Sep 2010, doi: [10.1016/j.nut.2010.05.008](https://doi.org/10.1016/j.nut.2010.05.008).
- [33] I. Kandida, M. Tari, dan A. Fatiqin, “Effectiveness of the Combination of Green Betel Leaf Extract (*Piper betle*) and Mint Leaf (*Mentha piperita*) as Antibacterials against *Streptococcus mutans*,” *Bioactivities*, vol. 1, no. 1, hlm. 32–38, Jun 2023, doi: [10.47352/bioactivities.2963-654X.184](https://doi.org/10.47352/bioactivities.2963-654X.184).
- [34] Neldawati, Gusnedi, dan Ratnawulan, “Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat,” vol. 72, no. 2, 2013, doi: [10.24036/756171074](https://doi.org/10.24036/756171074).
- [35] A. Hasanoglu, C. Ara, S. Ozen, K. Kali, M. Senol, dan E. Ertas, “Efficacy of micronized flavonoid fraction in healing of clean and infected wounds,” *Int. J. Angiol.*, vol. 10, no. 01, hlm. 41–44, Apr 2011, doi: [10.1007/BF01616343](https://doi.org/10.1007/BF01616343).
- [36] A. Miller dan D. Dearing, “The Metabolic and Ecological Interactions of Oxalate-Degrading Bacteria in the Mammalian Gut,” *Pathogens*, vol. 2, no. 4, hlm. 636–652, Des 2013, doi: [10.3390/pathogens2040636](https://doi.org/10.3390/pathogens2040636).