

Pengaruh Pemberian Gel Ekstrak Daun Pegagan (*Cantella asiatica*) sebagai Peningkat Neovaskularisasi, Fibroblast dan Epitalisasi dalam Penyembuhan Luka Tikus Jantan

Gempita Cahaya Aulia Tambunan^{1*}, Ermi Girsang², Ali Napiah Nasution³

¹Magister Biomedis, Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi, dan Ilmu Kesehatan, Universitas Prima Indonesia, Indonesia; gempitacat@gmail.com

²Magister Biomedis, Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi, dan Ilmu Kesehatan, Universitas Prima Indonesia, Indonesia; ernigirsang@unprimdn.ac.id

³Magister Biomedis, Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi, dan Ilmu Kesehatan, Universitas Prima Indonesia, Indonesia; alinapiahnasution@unprimdn.ac.id

*(Korespondensi e-mail: gempitacat@gmail.com)

ABSTRAK

Penyembuhan luka (*wound healing*) adalah suatu bentuk proses untuk memperbaiki kerusakan yang terjadi pada struktur jaringan kulit. Dalam proses penyembuhan luka diperlukan proses neovaskularisasi, epitalisasi dan fibroblas untuk mempercepat proses penyembuhan luka. Daun pegagan (*Centella asiatica*) berperan sebagai penyembuh luka yang mengandung senyawa antioksidan, agen antimikroba dan agen sintesis kolagen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana pemberian gel ekstrak daun pegagan dalam meningkatkan neovaskularisasi, epitalisasi, dan jumlah fibroblas pada tikus jantan. Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental *Post test Only Control Group Design*. Populasi dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) dewasa yang berjumlah 36 ekor berjenis kelamin jantan dan sehat, dengan umur 24 bulan dan berat 350-550 gram. Pada penelitian ini sampel dengan jumlah sebanyak 26 ekor tikur dibagi dua kelompok, yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol yang diadaptasi selama 10 hari. Hasil penelitian menunjukkan berdasarkan uji komparabilitas menunjukkan vaskularisasi diperoleh nilai sig 0,003 ($0,003 < 0,05$) dengan nilai rerata vaskularisasi setelah perlakuan 10 hari adalah 0.44 ± 0.53 , pada epitaliasi diperoleh nilai sig 0,003 ($0,003 < 0,05$) dengan nilai rerata epitaliasi setelah perlakuan 10 hari adalah 3.00 ± 0.00 , pada fibroblas diperoleh nilai sig 0,000 dengan nilai rerata fibroblast setelah perlakuan 10 hari adalah 0.56 ± 0.53 . berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak daun pegagan dalam meningkatkan neovaskularisasi, epitalisasi, dan jumlah fibroblas pada tikus jantan.

Kata kunci: Neovaskularisasi, Epitalisasi, Fibroblas, Penyembuhan Luka, *Centella Asiatica*

Abstract

Wound healing is a form of process to repair damage that occurs in the skin tissue structure. In the wound healing process, neovascularization, epithelialization and fibroblast processes are needed to accelerate the wound healing process. Gotu kola leaves (Centella asiatica) acts as a wound healer which contains antioxidant compounds, antimicrobial agents and collagen synthesis agents. This study aims to find out how administration of Centella asiatica leaf extract gel increases neovascularization, epithelialization, and the number of fibroblasts in male rats. This research uses experimental research type Post test Only Control Group Design. The population in this study were 36 adult white rats (Rattus norvegicus), male and healthy, aged 24 months and weighing 350-550 grams. In this study, a

sample of 26 rats was divided into 2 groups, namely the control group and the treatment group and adapted for 10 days. The results showed that based on the comparability test showing vascularization, a sig value of 0.003 ($0.003 < 0.05$) was obtained with an average value of vascularity after 10 days of treatment was 0.44 ± 0.53 , in epithelialization a sig value of 0.003 ($0.003 < 0.05$) with an average value of epithelialization after 10 days of treatment was 3.00 ± 0.00 , for fibroblasts a sig value of 0.000 ($0.000 < 0.05$) was obtained with the mean value of fibroblasts after 10 days of treatment was 0.56 ± 0.53 . based on the results of the study showed that administration of Centella asiatica leaf extract gel increased neovascularization, epithelialization, and the number of fibroblasts in male rats.

Keywords: Neovascularization, Epithelialization, Fibroblasts, Wound Healing, Centella Asiatica

PENDAHULUAN

Angka harapan hidup semakin meningkat seiring dengan perkembangan kemajuan ilmu kedokteran. Sementara itu, angka kelahiran mengalami penurunan yang menjadikan populasi orang tua di dunia semakin meningkat (Ai et al., 2020). Manusia dari tiap negara dan tiap zaman memiliki harapan hidup yang berbeda. Dengan semakin meningkatnya angka harapan hidup manusia serta semakin meningkatnya jumlah populasi termasuk orang tua, maka lahirlah istilah Anti-aging Medicine pada tahun 1993, yang menganggap penuaan dapat dicegah, diobati, dan dihindari agar kembali pada keadaan awalnya (Balevi & Balevi, 2023). Dengan demikian, manusia tidak hanya membiarkan dirinya menjadi tua, bahkan jika terpaksa harus mendapatkan pengobatan atau perawatan yang belum tentu memberikan hasil yang sesuai dengan harapan mereka (Boswell-Patterson et al., 2023).

Ada beberapa faktor penyebab penuaan, yaitu faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal seperti radikal bebas, metilasi, apoptosis, hormon berkurang, sistem kekebalan yang menurun, proses glikolisis, dan gen (Cankurtaran & Ceylan, 2023). Sedangkan, faktor eksternalnya seperti gaya hidup tidak sehat, kemiskinan, polusi lingkungan, kebiasaan salah, dan stress (da Rocha et al., 2019). Jika kondisi tubuh manusia pada usia tua menjadikannya tidak mampu dalam memperbaiki kerusakan karena penyebab apapun, maka teori pemberian medikasi yang tepat dapat membantu mengembalikan proses penuaan. Mekanisme ini dapat terjadi dengan menstimulasi kemampuan pada tubuh agar mempertahankan dan melakukan perbaikan sel dan organ tubuh. Proses penuaan erat kaitannya dengan perubahan pada semua jaringan termasuk jaringan kulit yang terjadi secara terus-menerus (Gad et al., 2023).

Penuaan pada kulit dapat disebabkan oleh faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik (Hemagirri & Sasidharan, 2022). Fungsi kulit sangat penting dalam kehidupan manusia, antara lain sebagai pelindung terhadap lingkungan luar, termoregulasi, dan pengaturan keseimbangan air dan elektrolit (Kaltalioglu, 2023). Kulit sangat mudah mengalami luka mengingat fungsinya sebagai barrier tubuh yang terletak pada bagian paling luar dari organ tubuh. Penyembuhan luka merupakan sesuatu yang sangat penting untuk mengembalikan status fungsional kulit yang terganggu dan mengembalikan kontinuitas pada suatu jaringan yang terputus. Pada penyembuhan luka ini, interaksi-interaksi yang berkelanjutan antara sel-sel dan sel-matriks terlihat dalam empat fase yang saling tumpang tindih, yaitu fase koagulasi, fase inflamasi, fase proliferasi – migrasi dan fase remodeling (Movaffagh et al., 2022).

Menurut Okyar dkk (2023), perawatan terbaik dan optimal untuk luka terbuka adalah penggunaan bahan dan metode yang mempercepat kontraksi luka, mencegah

pembentukan jaringan granulasi yang berlebihan, mencegah pertumbuhan bakteri, mempertahankan pH normal, dan bertindak sebagai humektan yang sesuai untuk mempercepat penutupan luka. Berbagai bentuk gangguan penyembuhan luka telah mendorong para peneliti di seluruh dunia untuk mencoba mencari bahan atau formulasi obat yang dapat membantu mempercepat proses penyembuhan luka (Otsu & Taniguchi, 2020). Saat ini telah banyak digunakan penggantian obat kimia dengan bahan herbal yang dikenal dengan fitofarmaka (Ruangchuay et al., 2021).

Obat tradisional tersebut tidak hanya digunakan pada fase terapeutik tetapi juga pada fase preventif, promotif, dan rehabilitasi. Obat-obatan ini banyak digunakan karena ketersediaannya dan ekonomis serta penelitian telah menunjukkan bahwa memiliki efek samping yang relatif sedikit dan memiliki efek sinergis yang saling mendukung (ShanmugaPriya et al., 2023). Daun pegagan (*Centella asiatica*) merupakan tanaman yang tumbuh subur di Indonesia, tumbuh di tanah yang sedikit lembab dan cerah seperti padang rumput, selokan, sawah, dan lain-lain (Smida et al., 2022). Pegagan mengandung berbagai senyawa saponin antara lain asiaticoside, asiatic acid dan madecassosida, yang merangsang produksi kolagen tipe I, thankunside, isothankunside, brahmie acid, brahmioside, centellose, madasiatic acid, meso-inositol, carotenoids, garam kalium, garam natrium, kalsium garam, besi, minyak atsiri, fosfor, veralin, tanin, pektin, musin, resin, gula, vitamin B, sedikit vitamin C, kalsium oksalat, dan amygdalin (Sumioka et al., 2023).

Tanin berperan sebagai antioksidan, antimikroba, dan memiliki efek hemodinamik dengan vasokonstriksi dan pembuatan sumbatan mekanik untuk menghentikan perdarahan yang ringan (Suzuki et al., 2023). Mekanisme penyembuhan luka oleh saponin adalah dengan merangsang pembentukan kolagen tipe 1 yang berperan dalam penutupan luka dan meningkatkan pengepitan jaringan (Tanga et al., 2022). Selain itu, saponin juga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dan antimikroba serta dapat mempercepat migrasi sel epitel (Terhaar et al., 2022).

Belum banyak penelitian yang dilakukan terhadap tanaman pegagan. Di masyarakat, tanaman ini banyak digunakan untuk terapi, dimana tanaman pegagan telah dikenal luas karena khasiatnya dalam pengobatan penyakit kusta, lupus, luka varises, amenore, eksim, psoriasis, diare, demam, memperbaiki kesadaran dan menghilangkan kecemasan (Wang et al., 2022). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh gel ekstrak daun pegagan terhadap peningkatan neovaskularisasi, epitelisasi dan jumlah fibroblas pada tikus jantan (Yang et al., 2022).

METODE

Bahan

Makanan ternak standar, gel basis, Bioplacenton 15 g, ketamine 50 mg/kg bb, formalin neutral buffer 10%, bahan untuk sediaan histopatologi: Mayer's hematoxylin, xylol, larutan eosin, alkohol konsentrasi bertingkat (70%, 80%, 90% , 95%, 100%), larutan litium karbonat, air suling, parafin dan 20% ekstrak daun pegagan (*Foeniculum vulgare*) yang diekstraksi dari daun pegagan lokal dengan cara maserasi (Elloumi et al., 2022).

Pengambilan ekstrak daun pegagan dan pembuatan gel

Pertama, petik dan kumpulkan daun pegagan segar yang tidak terlalu tua atau muda. Daun pegagan diperoleh dari kebun tanaman obat-obatan di Balai Penelitian

Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) milik Dinas Pertanian Kabupaten Bogor. Daun pegagan kemudian dicuci bersih dengan air dan dikeringkan dengan oven. Setelah itu diekstraksi dengan metode perendaman bertingkat dengan pelarut etanol 96% dan etil asetat, yaitu proses ekstraksi pencelupan zat unsur ke dalam pelarut etanol 96% pada suhu ruang, perendaman selama 3 hari sambil diaduk atau dikocok, dan disimpan dalam botol gelap, diekstraksi 3 kali (Diniz et al., 2023b). Setelah filtrat etanol terbentuk, residu yang merupakan fraksi air kemudian dimaserasi lagi menggunakan pelarut etil asetat untuk membentuk filtrat etil asetat (Okselni et al., 2023). Pada proses selanjutnya, larutan maserasi dipisahkan dari pelarutnya dengan cara diuapkan secara in vacuum dengan rotary evaporator, sehingga diperoleh ekstrak berbentuk pasta.

Gel dibuat dengan melarutkan ekstrak pegagan dalam sebagian air suling dan dipanaskan hingga 50°C. CMC-Na dipanaskan dengan sisa air suling di atas magnetic stirrer dengan kecepatan pengadukan 400 rpm dan suhu 70°C ditambah methylparaben hingga larut (Rizaoğlu, 2018). Propilenglikol dan gliserin dicampur kemudian ditambahkan ke campuran CMC-Na dan metilparaben kemudian ditambahkan ekstrak yang sudah dicairkan, diaduk secara kontinu hingga terbentuk gel. Tabel 1 memuat formulasi gel yang dibuat pada penelitian ini.

Tabel 1. Formulasi pembuatan gel ekstrak pegagan

Bahan	Konsentrasi (%)			Kegunaan
	I	II	III	
Ekstrak daun pegagan	3	4	5	Zat aktif
CMC-Na	5	5	5	<i>Gelling agent</i>
Propilen glikol	15	15	15	Humectan
Gliserin	10	10	10	Humectan
Metil paraben	0,25	0,25	0,25	Pegawet
Aquades	100	100	100	Pelarut

Prosedur Penelitian

Sebanyak 36 mencit diaklimatisasi selama 1 minggu. Tikus secara acak dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Punggung semua tikus dicukur. Dilakukan biopsi dengan disposable punch biopsy 6 mm dilakukan untuk mendapatkan luka dengan ketebalan penuh pada matriks gel dan kelompok gel ekstrak daun centella. Setelah luka dibuat, kelompok kontrol diberikan matriks gel setiap hari, dan kelompok perlakuan diberikan gel ekstrak daun pegagan setiap hari. Seluruh tikus diberikan antibiotik bioplasenta secara oral. Dosis antibiotik plasenta mengacu pada dosis plasenta pada manusia yaitu gel yang diberikan setiap hari, kelompok kontrol adalah gel basis, dan kelompok perlakuan adalah gel ekstrak daun pegagan. Gel dioleskan langsung dan merata pada luka. Luka kemudian ditutup dengan kasa steril dan plester. Pada hari keempat, 9 tikus pada kelompok kontrol dan 9 tikus pada kelompok perlakuan dibius, dan diambil sampel jaringan luka. Semua tikus kemudian dibunuh dan dikubur dengan baik karena tidak dapat lagi digunakan untuk penelitian lain. Pada hari kedelapan, semua tikus dibius dan diambil sampel jaringan luka. Semua tikus dibius dan dikubur dengan benar sesudahnya, karena tidak dapat lagi digunakan untuk penelitian lain. Pengambilan kulit dilakukan setelah tikus sebelumnya di-eutanasia dengan ketamin. Bagian dorsal kulit yang diambil dibersihkan dari rambut, kemudian kulit dipotong setebal ± 3 mm pada lapisan subkutan dengan diameter 1 cm. Kulit yang diperoleh kemudian difiksasi

dengan formalin buffer netral 10% dan dibiarkan pada suhu kamar selama \pm 48 jam (Diniz et al., 2023a).

Pengamatan Histologi

Pengamatan histologis dilakukan pada sampel kulit yang didapatkan pada hari ke-4 dan ke-8. Parameter yang diamati pada pemeriksaan histopatologi adalah jumlah neovaskularisasi, ketebalan epitelisasi dan jumlah fibroblas, preparat yang digunakan adalah preparat yang telah diwarnai dengan HE. Pengamatan histologis fibroblas dimulai dengan menghitung jumlah fibroblas menggunakan mikroskop binokular (Olympus CX-21 Japan) dengan perbesaran objektif 40x. Pemetretan dengan mengambil foto yang diulang tiga kali. Pengamatan histologis neovaskularisasi dimulai dengan menghitung jumlah neovaskularisasi menggunakan mikroskop binokular (Olympus CX-21 Japan) dengan perbesaran objektif 40x. Kemudian diambil tiga bidikan foto (Hossain et al., 2020). Pengamatan histologis epitelisasi dimulai dengan mengukur ketebalan epitel menggunakan metode histomorfologi dalam satuan mikrometer menggunakan fotomikrograf.

Analisis Data

Seluruh data hasil penelitian ini dianalisis dengan menggunakan program SPSS versi 17.0 Analisis data meliputi:

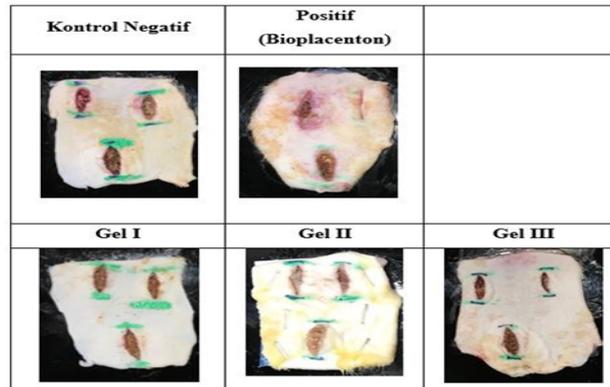
1. Analitik deskriptif.
2. Analisis normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk karena jumlah sampel kurang dari 30 per kelompok dan data terdistribusi normal ketika $p > 0,05$.
3. Homogenitas varian diuji menggunakan Levene's test. varian data dinyatakan homogen ketika $p > 0,05$.

Dalam kajian ini, uji statistik parametrik dan independent t-test. Digunakan untuk membandingkan rata-rata parameter kedua kelompok perlakuan, data berdistribusi normal dan homogen. Uji Mann-Whitney U digunakan untuk data yang tidak homogen atau berdistribusi tidak normal (Artem Ataide et al., 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

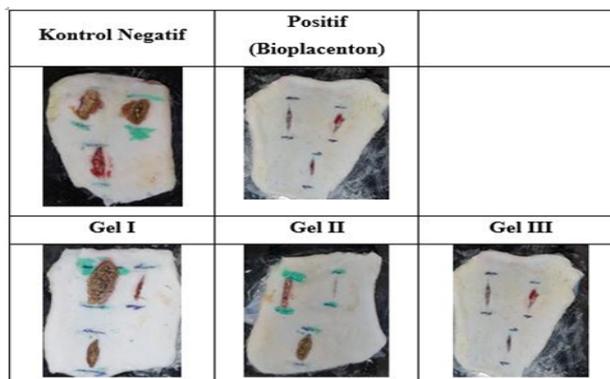
Struktur Mikroskopik Luka

Dari penampakan makroskopis luka pada kulit hari ke-3, 7, dan 10, luka pada kulit tikus diklasifikasikan dalam kontrol negatif dan positif (Bioplacenton) dan pemberian gel pasca perlukaan meliputi pemberian gel I, gel II, dan gel III. Perlakuan ini dilakukan kepada 9 ekor tikus yang dilakukan percobaan. Berikut ini adalah gambar makroskopis persembuhan luka pada kulit hari ke-3, 7, dan 10 ditampilkan pada Gambar 1-3. Pada Gambar 1 terlihat bahwa saat luka tidak diberi gel atau pada kontrol negatif, luka tikus tidak mengalami penutupan luka. Sementara itu, ketika luka diberikan bioplacenton pada tahap pemberian gel I, gel II dan gel III luka tikus semakin membaik dan luka perlahan menutup.

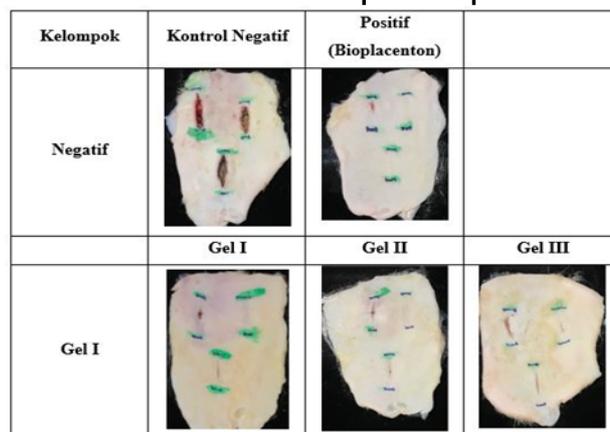


Gambar 1. Struktur makroskopis luka pada hari ke-3.

Pada tahap selanjutnya yaitu pada hari ke-7 pasca perlukaan, luka dengan kategori kontrol negatif (tidak diberikan gel ekstrak pegagan) semakin tidak membaik dan luka terbuka. Sementara itu, pada pemberian gel yang pertama satu luka mulai tertutup, selanjut pemberian gel kedua luka mulai membaik dan tertutup dan pada pemberian gel ketiga tiga luka pada kulit tikus semakin rapat dan tertutup.



Gambar 2. Struktur makroskopis luka pada hari ke-7.



Gambar 3. Struktur makroskopis luka pada hari ke-10

Hasil gambar struktur luka tersebut menunjukkan bahwa dari 9 jumlah luka pada kulit tikus terdapat 9 luka yang telah menutup dari setiap kelompok pada 3, 7 dan 10 hari pengamatan. Hal ini menunjukkan efektivitas pemberian gel pada luka kulit tikus sehingga dapat menutup luka dan menyembuhkan luka pada kulit tikus. Berdasarkan keseluruhan hasil pengujian di kelompok perlakuan pasca luka dengan

pemberian gel I, II, dan III, terdapat peningkatan penyembuhan luka pada kulit tikus yang setiap 3 hari sekali mengalami penutupan luka dengan sempurna. Hasil pengamatan yang dilakukan pada hari ke-3, 7 dan 10 berhasil.

Analisis Lebar Luka

Lebar luka pada penelitian ini adalah jarak antara jaringan normal dan rongga mikroskopis yang diukur pada tingkat epidermis yang mengandung jaringan luka (seperti terlihat pada Gambar 1). Penutupan luka pada hewan percobaan model insisi terutama tikus terjadi melalui pertemuan kedua sisi panjang luka (Veeruraj et al., 2019). Tabel 2 menyajikan lebar luka setelah pemberian ekstrak gel pegagan.

Pada tabel diatas menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol negatif dari total jumlah tikus yaitu 9 ekor, tidak ada luka kulit tikus yang mengalami kesembuhan pasca perlukaan pada hari ke-3 sehingga luka masih 100%. Selanjutnya pada hari ke-7 luka yang tertutup mulai tampak pada 4 ekor tikus dengan sisa luka 55.56 % dan pada hari ke-10 terdapat 5 ekor tikus yang sembuh dengan presentasi luka 44.44%. Kemudian pada kelompok kontrol positif yakni pemberian bioplacenton terdapat 4 ekor tikus yang mengalami kesembuhan dari 9 ekor tikus percobaan dengan presentase 55.56%. Pada hari ke-7 terdapat 8 ekor dari 10 tikus yang sembuh dengan nilai presentase sebesar 11.11%, dan terakhir pada hari ke-10 total jumlah tikus yaitu 9 ekor mengalami kesembuhan dengan presentase 0%.

Tabel 2. Jumlah luka menutup terhadap total luka perkelompok pada hari ke-3, 7 dan 10 pasca perlukaan

Kelompok	Hari ke-3		Hari ke-7		Hari ke-10	
	Tertutup luka (ekor)	Sisa Luka (%)	Tertutup luka (ekor)	Sisa Luka (%)	Tertutup luka (ekor)	Sisa Luka (%)
Kontrol Negatif	0/9	100.00	4/9	55.56	5/9	44.44
Kontrol Positif	4/9	55.56	8/9	11.11	9/9	0.00
Gel I	1/9	88.89	5/9	55.56	9/9	0.00
Gel II	0/9	100.00	5/9	55.56	9/9	0.00
Gel III	0/9	100.00	4/9	44.44	9/9	0.00

Tabel 3 menunjukkan bahwa perkembangan sisa luka dalam tahapan yang dikelompokkan yaitu kontrol negatif, kontrol positif, gel I (50%), gel II (75 %), dan gel III (100 %). Pada setiap tahapan ini terdapat perbedaan besaran ukuran lebar dari luka yang diberi gel dan tidak diberikan gel. Pada kelompok kontrol negatif, hari ke-3 rata-rata lebar luka mencapai 81,82 mm dengan kesembuhan luka 3,63 mm, pada hari ke-7 rata-rata lebar luka mencapai 73,96 mm dengan kesembuhan luka 5,99 mm dan pada hari ke-10 rata-rata lebar luka mencapai 53,57 mm dengan kesembuhan luka 4,64 mm. Selanjutnya pada kelompok kontrol positif, hari ke-3 rata-rata lebar luka mencapai 78,12 mm dengan kesembuhan luka 6,72 mm dan pada hari ke-10 rata-rata lebar luka mencapai 24,69 mm dengan kesembuhan luka 5,74 mm. Pada kelompok pemberian gel I pada hari ke-3 rata-rata lebar luka mencapai 82,32 mm dengan kesembuhan luka 2,81 mm, pada hari ke-7 rata-rata lebar luka mencapai 65,25 mm dengan kesembuhan luka 4,56 mm dan pada hari ke-10 rata-rata lebar luka mencapai 47,46 mm dengan kesembuhan luka 3,51 mm. Pada kelompok pemberian gel II, hari ke-3 menunjukkan rata-rata lebar luka mencapai 83,20 mm dengan kesembuhan luka 0,83 mm, pada hari ke-7 menunjukkan rata-rata lebar luka mencapai 60,15 mm dengan kesembuhan luka 5,72 mm dan pada hari ke-10

menunjukkan rata-rata lebar luka mencapai 35,46 mm dengan kesembuhan luka 5,51 mm. Kelompok gel III, pada hari ke-3 menunjukkan rata-rata lebar luka mencapai 80,23 mm dengan kesembuhan luka 2,82 mm, pada hari ke-7 menunjukkan rata-rata lebar luka mencapai 59,00 mm dengan kesembuhan luka 1,94 mm dan pada hari ke-10 menunjukkan rata-rata lebar luka mencapai 31,58 mm dengan kesembuhan luka 2,95 mm.

Tabel 3. Proporsi sisa luka (%) pada hari ke-3, 7 dan 10 hari pasca perlakuan

Kelompok	Hari ke-3 (mm)	Hari ke-7 (mm)	Hari ke-10 (mm)
Kontrol Negatif	81,82 ± 3,63	73,96 ± 5,99	53,57 ± 4,64
Kontrol Positif (Bioplacenton)	78,12 ± 6,72	49,60 ± 3,64	24,69 ± 5,74
Gel I (50%)	82,32 ± 2,81	65,25 ± 4,56	47,46 ± 3,51
Gel II (75 %)	83,20 ± 0,83	60,15 ± 5,72	35,46 ± 5,51
Gel III (100 %)	80,23 ± 2,82	59,00 ± 1,94	31,58 ± 2,95

Analisis Statistik Deskriptif

Analisis deskriptif adalah analisis statistik terhadap data dengan cara mendeskripsikan atau memaparkan data yang terkumpul sebagaimana adanya tanpa bermaksud menarik kesimpulan umum atau generalisasi (Swastini et al., 2021). Pada penelitian ini data penelitian variabel vaskularisasi, fibroblas, dan epitelisasi pada masing-masing kelompok perlakuan kontrol dan data perlakuan gel ekstrak daun pegagan pada jaringan luka tikus jantan. Hasil analisis vaskularisasi, epitelisasi dan fibroblast pada masing-masing kelompok pemberian disajikan pada Tabel 4.

Berdasarkan hasil analisis deskriptif pada Tabel 4 terlihat bahwa pada perlakuan kontrol variabel vaskularisasi diperoleh nilai rata-rata sebesar 0,5767 dengan nilai standar deviasi pada perlakuan kontrol variabel vaskularisasi sebesar 0,00516. Pada perlakuan pemberian gel variabel vaskularisasi diperoleh nilai rata-rata sebesar 0,3556 dengan nilai standar deviasi pada perlakuan pemberian gel variabel vaskularisasi sebesar 0,14328. Pada perlakuan kontrol variabel epitalisasi diperoleh nilai rata-rata sebesar 0,5833 dengan nilai standar deviasi pada perlakuan kontrol variabel epitalisasi sebesar 0,01506. Pada perlakuan pemberian gel variabel epitalisasi diperoleh nilai rata-rata sebesar 0,3589 dengan nilai standar deviasi pada perlakuan pemberian gel variabel epitalisasi sebesar 0,14962. Pada perlakuan kontrol variabel fibroblas diperoleh nilai rata-rata sebesar 0,3133 dengan nilai standar deviasi pada perlakuan kontrol variabel fibroblas sebesar 0,1633. Pada perlakuan pemberian gel variabel fibroblas diperoleh nilai rata-rata sebesar 0,1867 dengan nilai standar deviasi pada perlakuan pemberian gel variabel fibroblas sebesar 0,01871.

Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov

Uji normalitas digunakan untuk menilai apakah variabel bebas dan variabel terikat mengikuti distribusi normal. Pada penelitian ini, uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov dengan kriteria yang berlaku, jika nilai signifikansi atau nilai $p > 0,05$ maka data berdistribusi normal atau jika nilai $p < 0,05$ maka data tidak berdistribusi normal (Hajialyani et al., 2018). Tabel 5 menampilkan hasil uji normalitas pada penelitian ini. Tabel 5 Hasil uji normalitas data antar kelompok menunjukkan nilai Asymp.Sig 0,086 untuk variabel vaskularisasi lebih besar dari 0,05; nilai Asymp.Sig 0,061 untuk variabel epitelisasi lebih besar dari 0,05; dan nilai Asymp.Sig untuk variabel Sel fibroblas, nilai Asymp.Sig sebesar 0,200 lebih besar dari

0,05.

Tabel 4. Hasil analisis deksriptif variabel antar kelompok

	Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Vaskularisasi	1	6	0,5767	0,00516	0,00211
	2	9	0,3556	0,14328	0,04776
Epitelisasi	1	6	0,5833	0,01506	0,00615
	2	9	0,3589	0,14962	0,04987
Fibroblas	1	6	0,3133	0,01633	0,00667
	2	9	0,1867	0,01871	0,00624

Tabel 5. Hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov

		Vaskularisasi	Epitelisasi	Fibroblast
N		15	15	15
<i>Normal Parameters^{a,b}</i>	<i>Mean</i>	1,5760	2,1560	1,2527
	<i>Std. Deviation</i>	0,91432	0,85575	0,58678
	<i>Most Extreme Differences</i>			
	<i>Absolute</i>	0,206	0,215	0,132
	<i>Positive</i>	0,206	0,162	0,132
	<i>Negative</i>	-0,161	-0,215	-0,128
<i>Test Statistic</i>		0,206	0,215	,132
<i>Asymp. Sig. (2-tailed)</i>		0,086 ^c	0,061 ^c	0,200 ^{c,d}

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

Tabel 6. Hasil uji homogenitas Levene

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Vaskularisasi	<i>Based on Mean</i>	0,059	1	13	,812
	<i>Based on Median</i>	0,006	1	13	,938
	<i>Based on Median and with adjusted df</i>	0,006	1	12,245	,938
	<i>Based on trimmed mean</i>	0,052	1	13	,823
Epitelisasi	<i>Based on Mean</i>	0,583	1	13	,459
	<i>Based on Median</i>	0,767	1	13	,397
	<i>Based on Median and with adjusted df</i>	0,767	1	12,011	,398
	<i>Based on trimmed mean</i>	0,653	1	13	,434
Fibroblas	<i>Based on Mean</i>	0,045	1	13	,836
	<i>Based on Median</i>	0,106	1	13	,750
	<i>Based on Median and with adjusted df</i>	0,106	1	12,125	,750
	<i>Based on trimmed mean</i>	,056	1	13	,817

Berdasarkan hasil uji normalitas data antar kelompok yang telah diuraikan menunjukkan bahwa secara keseluruhan variabel vaskularisasi, variabel epitelisasi dan variabel fibroblast menunjukkan bahwa data berdistribusi secara normal

(*Asymp. Sig*>0,05).

Uji Homogenitas Levene

Uji homogenitas digunakan sebagai acuan untuk menentukan keputusan uji statistik. Dalam penelitian ini, Uji homogenitas yang menggunakan adalah uji Levene's. Uji Levene's digunakan untuk menguji homogenitas varian antar kelompok data. Pedoman dasar keputusan pengujian homogenitas dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: Jika nilainya signifikan atau Sig. < 0,05 artinya varian dari dua populasi data atau lebih tidak sama (tidak homogen), jika nilainya signifikan atau Sig. > 0,05, dua atau lebih kelompok data dikatakan memiliki varian yang sama (homogen) (Ngeow et al., 2022).

Hasil uji homogenitas pada Tabel 6 pada variabel vaskularisasi diperoleh nilai taraf signifikansi sebesar 0,812 lebih besar dari 0,05 ($0,812 > 0,05$), pada variabel epitelisasi diperoleh nilai taraf signifikansi sebesar 0,459 lebih besar dari 0,05 ($0,459 > 0,05$), pada variabel fibroblas diperoleh nilai taraf signifikansi sebesar 0,836 lebih besar dari 0,05 ($0,836 > 0,05$). Maka berdasarkan hasil perhitungan uji homogenitas pada semua variabel data antar kelompok diperoleh nilai signifikansi > 0,05 dapat disimpulkan bahwa semua variabel data antar kelompok mempunyai nilai varian yang sama/tidak berbeda (homogen).

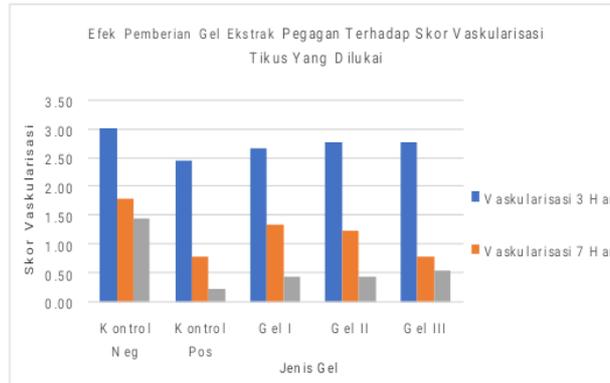
Pengaruh Gel Ekstrak Daun Pegagan terhadap Variabel Respon

Gambar 4 menunjukkan rerata neovaskularisasi pada kelompok perlakuan kontrol negatif yaitu tidak diberikan obat dalam proses penyembuhan luka selama 10 hari adalah 1.33 ± 0.50 dan pada kelompok perlakuan kontrol positif yaitu setelah diberikan Bioplacenton selama 10 hari adalah 0.56 ± 0.53 serta pada kelompok perlakuan pemberian gel ekstrak daun pegagan selama 10 hari pada pemberian gel I dengan dosis 50% adalah 1.00 ± 0.00 , Pada pemberian gel II dengan dosis 75% adalah 0.78 ± 0.78 dan Pada pemberian gel III dengan dosis 100% adalah 0.44 ± 0.53 . Hal ini menunjukkan bahwa pada pemberian ekstrak gel daun pegagan dapat meningkatkan neovaskularisasi pada proses penyembuhan luka. Pemberian ekstrak gel daun pegagan dosis 100% pada penyembuhan luka tikus jantan tua dapat menyebabkan luka menjadi lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan kontrol positif dan kontrol negatif sehingga terdapat perbedaan nilai rata-rata pada penyembuhan luka tikus jantan tua pada sebelum dan sesudah perlakuan kontrol negatif, positif, dan perlakuan pemberian gel ekstrak daun pegagan.

Berdasarkan pada hasil uji komparabilitas neovaskularisasi pada sebelum dan sesudah perlakuan kontrol dan perlakuan pemberian gel ekstrak daun pegagan pada tikus jantan diperoleh nilai t sebesar 3,731 dan signifikansi sebesar 0,003. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak daun pegagan dapat meningkatkan neovaskularisasi selama penyembuhan luka pada tikus jantan umur tua. Epitelisasi merupakan perubahan penting pada fisiologis yang berkaitan dengan bagian dari proses regenerasi jaringan setelah luka. Proses ini mengembalikan epidermis utuh ke keadaan semula. Faktor-faktor yang terlibat termasuk migrasi keratinosit ke dalam jaringan luka, proliferasi keratinosit, diferensiasi neoepitelium menjadi epidermis berlapis-lapis, dan pemulihan *basement membrane zone* (BMZ) menjadi utuh yang menghubungkan epidermis ke dermis (Yang et al., 2022).

Epitelisasi berfungsi sebagai barrier antara lingkungan dalam dan luar. Kerusakan jaringan epitel menyebabkan cairan keluar dan menyebabkan bakteri dapat masuk ke dalam kulit. Epitelisasi bergerak dari tepi luka dengan sel tepi luka yang bersifat pagositik untuk membersihkan debris dan plasma. Luka dengan

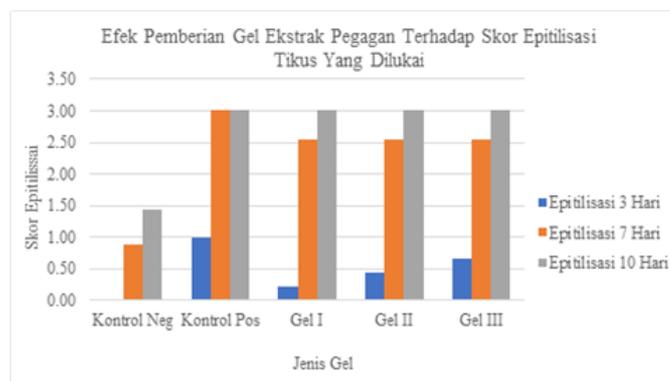
ketebalan kulit seperti donor *skin graft* akan lebih cepat mengalami epitelisasi bila dalam kondisi yang lembab.



Gambar 4. Pengaruh pemberian gel ekstrak daun pegagan terhadap skor vasikularisasi tikus yang dilukai

Gambar 5 menunjukkan hasil rerata epitelisasi pada kelompok perlakuan kontrol negatif yaitu tidak diberikan obat dalam proses penyembuhan luka selama 10 hari 1.44 ± 0.53 dan pada kelompok perlakuan kontrol positif yaitu setelah diberikan Bioplacenton selama 10 adalah 3.00 ± 0.00 serta pada kelompok perlakuan pemberian gel ekstrak daun pegagan selama 10 hari pada pemberian gel I dengan dosis 50% adalah 3.00 ± 0.00 , pada pemberian gel II dengan dosis 75% adalah 3.00 ± 3.00 dan pada pemberian gel III dengan dosis 100% adalah 3.00 ± 0.00 .

Oleh karena itu, dapat dibuktikan bahwa pemberian ekstrak gel daun pegagan dapat meningkatkan epitelisasi pada proses penyembuhan luka khususnya ketika dilakukan pemberian ekstrak gel daun pegagan dosis 100% yang dapat menyebabkan luka menjadi lebih kecil menjadi 3.00 ± 0.00 dibandingkan dengan perlakuan kontrol positif dan kontrol negatif sehingga terdapat perbedaan nilai rata-rata pada penyembuhan luka tikus jantan tua pada sebelum dan sesudah perlakuan kontrol negatif, kontrol positif dan perlakuan pemberian gel ekstrak daun pegagan dalam meningkatkan epitelisasi (Elloumi et al., 2022). Berdasarkan pada hasil uji komparabilitas epitaliasi pada sebelum dan sesudah perlakuan kontrol dan perlakuan pemberian gel ekstrak daun pegagan pada tikus jantan diperoleh nilai t sebesar 3,617 dan nilai signifikansi sebesar 0,003 lebih kecil dari 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nilai rata-rata pada sebelum dan sesudah diberikan perlakuan pemberian gel ekstrak daun pegagan pada tikus jantan dalam meningkatkan epitelisasi.

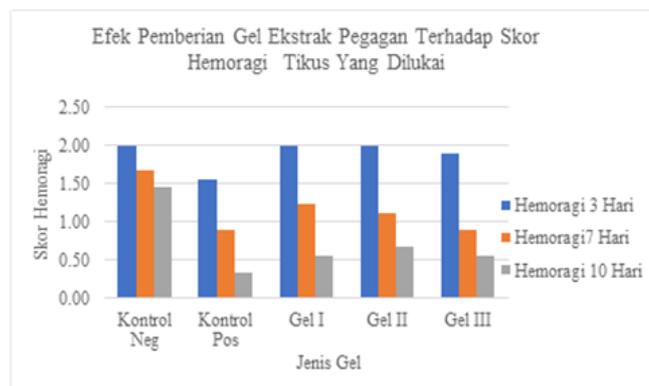


Gambar 5. Pengaruh pemberian gel ekstrak daun pegagan terhadap skor epitelisasi tikus yang dilukai

Gambar 6 menunjukkan hasil rerata fibroblas pada kelompok perlakuan kontrol negatif yaitu tidak diberikan obat dalam proses penyembuhan luka. Hasil penelitian ini menunjukkan nilai fobroblas dalam proses penyembuhan luka selama 10 hari 1.44 ± 0.53 dan pada kelompok perlakuan kontrol positif yaitu setelah diberikan Bioplacenton selama 10 adalah 0.33 ± 0.50 serta pada kelompok perlakuan pemberian gel ekstrak daun pegagan selama 10 hari pada pemberian gel I dengan dosis 50% adalah 0.56 ± 0.50 , pada pemberian gel II dengan dosis 75% adalah 0.67 ± 0.50 dan pada pemberian gel III dengan dosis 100% adalah 0.56 ± 0.53 .

Fibroblas merupakan sel yang berbentuk bulat oval dengan inti lonjong dan berwarna ungu tua dengan sitoplasma yang berwarna merah muda yang terlibat dalam proses penyembuhan luka. Sel fibroblas memiliki dua tahap aktivitas yaitu aktif dan pasif. Sel dengan aktivitas sintetik yang besar secara morfologi berbeda dengan sel fibroblast pasif yang tersebar dalam matriks yang telah dibuatnya serta elemen selular yang banyak ditemukan pada jaringan ikat gingiva yang berproliferasi dan aktif mensintesis komponen matriks pada proses penyembuhan luka dan perbaikan jaringan yang rusak (Hossain et al., 2020). Fibroblas berperan penting dalam proses penyembuhan luka. Fibroblas merupakan bahan dasar pembentukan jaringan parut dan kolagen yang memberikan kekuatan daya rentang pada 3 penyembuhan luka jaringan lunak. Secara umum, sel fibroblast berperan dalam membuat serat-serat kolagen, retikulin, elastin, glikosamioglikan dan glikoprotein.

Dengan demikian dapat dibuktikan bahwa pemberian gel ekstrak daun pegagan dapat meningkatkan epitelisasi selama penyembuhan luka, terutama pada dosis 100% ekstrak daun pegagan yang dapat menyebabkan luka menjadi lebih kecil menjadi 0.56 ± 0.53 dibandingkan dengan perlakuan kontrol positif dan kontrol fibrobla sehingga terdapat perbedaan nilai rata-rata pada penyembuhan luka tikus jantan tua pada sebelum dan sesudah perlakuan kontrol fibroblas, kontrol positif dan perlakuan pemberian gel ekstrak daun pegagan dalam meningkatkan fibroblas. Berdasarkan pada hasil uji komparabilitas fibroblas pada sebelum dan sesudah perlakuan kontrol dan perlakuan pemberian gel ekstrak daun pegagan pada tikus jantan diperoleh diperoleh nilai t sebesar 13,478 dan nilai signifikansi sebesar 0,000. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nilai rata-rata pada sebelum dan sesudah diberikan perlakuan pemberian gel ekstrak daun pegagan pada tikus jantan dalam meningkatkan fibroblas.



Gambar 6. Pengaruh pemberian gel ekstrak daun pegagan terhadap skor hemoragi tikus yang dilukai

KESIMPULAN

Pengaplikasian gel ekstrak daun pegagan pada jaringan luka tikus jantan tua

ditemukan dapat meningkatkan neovaskularisasi. Berdasarkan pada hasil uji komparabilitas neovaskularisasi diperoleh nilai t sebesar 3,731 dan signifikansi sebesar 0,003 yang berarti pemberian gel ekstrak daun pegagan dapat meningkatkan neovaskularisasi selama penyembuhan luka pada tikus jantan usia tua. Pemberian gel ekstrak daun pegagan pada jaringan luka tikus jantan tua meningkatkan epitalisasi. Berdasarkan pada hasil uji komparabilitas epitalisasi diperoleh nilai t sebesar 3,617 dan nilai signifikansi sebesar 0,003 lebih kecil dari 0,000, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan nilai rata-rata pada sebelum dan sesudah diberikan perlakuan pemberian gel ekstrak daun pegagan pada tikus jantan dalam meningkatkan epitelisasi. Pemberian gel ekstrak daun pegagan dapat meningkatkan kecepatan pembentukan fibroblas. Berdasarkan pada hasil uji komparabilitas fibroblas diperoleh nilai t sebesar 13,478 dan nilai signifikansi sebesar 0,000, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan nilai rata-rata pada sebelum dan sesudah diberikan perlakuan pemberian gel ekstrak daun pegagan pada tikus jantan dalam meningkatkan fibroblast.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih ke pada seluruh pihak yang terlibat hingga penelitian ini dapat selesai dengan baik. Khususnya kepada Magister Biomedis Universitas Prima Indonesia atas dukungan yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ai, C., Huang, L., & Zhang, Z. (2020). A Mann–Whitney Test Of Distributional Effects In A Multivalued Treatment. *Journal Of Statistical Planning And Inference*, 209, 85–100. <https://doi.org/10.1016/j.jspi.2020.03.002>
- Artem Ataide, J., Caramori Cefali, L., Machado Croisfelt, F., Arruda Martins Shimojo, A., Oliveira-Nascimento, L., & Gava Mazzola, P. (2018). Natural Actives For Wound Healing: A Review. *Phytotherapy Research*, 32(9), 1664–1674. <https://doi.org/10.1002/ptr.6102>
- Balevi, M., & Balevi, A. (2023). The Effect Of Centella Asiatica Cream On Scar Development In Patients Who Underwent Open Carpal Tunnel Release Surgery. *Journal Of Hand Therapy*. <https://doi.org/10.1016/j.jht.2022.11.001>
- Boswell-Patterson, C. A., Héту, M.-F., Pang, S. C., Herr, J. E., Zhou, J., Jain, S., Bambokian, A., & Johri, A. M. (2023). Novel Theranostic Approaches To Neovascularized Atherosclerotic Plaques. *Atherosclerosis*, 374, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2023.04.008>
- Cankurtaran, M., & Ceylan, S. (2023). Vitamins, Minerals, And Antiaging Drugs In Older Adults. In *Beauty, Aging, And Antiaging* (Pp. 135–142). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-98804-9.00010-4>
- Da Rocha, P. B. R., Souza, B. Dos S., Andrade, L. M., Dos Anjos, J. L. V, Mendanha, S. A., Alonso, A., Marreto, R. N., & Taveira, S. F. (2019). Enhanced Asiaticoside Skin Permeation By Centella Asiatica-Loaded Lipid Nanoparticles: Effects Of Extract Type And Study Of Stratum Corneum Lipid Dynamics. *Journal Of Drug Delivery Science And Technology*, 50, 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.01.016>
- Diniz, L. R. L., Calado, L. L., Duarte, A. B. S., & De Sousa, D. P. (2023a). Centella Asiatica And Its Metabolite Asiatic Acid: Wound Healing Effects And Therapeutic

- Potential. *Metabolites*, 13(2), 276.
<https://doi.org/10.3390/metabo13020276>
- Diniz, L. R. L., Calado, L. L., Duarte, A. B. S., & De Sousa, D. P. (2023b). Centella Asiatica And Its Metabolite Asiatic Acid: Wound Healing Effects And Therapeutic Potential. *Metabolites*, 13(2), 276. <https://doi.org/10.3390/metabo13020276>
- Elloumi, W., Mahmoudi, A., Ortiz, S., Boutefnouchet, S., Chamkha, M., & Sayadi, S. (2022). Wound Healing Potential Of Quercetin-3-O-Rhamnoside And Myricetin-3-O-Rhamnoside Isolated From Pistacia Lentiscus Distilled Leaves In Rats Model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 146(14), 112574. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112574>
- Gad, H. A., El Hassab, M. A., Elhady, S. S., & Fahmy, N. M. (2023). Insights On Citrus Clementina Essential Oil As A Potential Antiaging Candidate With A Comparative Chemometric Study On Different Cultivars. *Industrial Crops And Products*, 194, 116349. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116349>
- Hajjalyani, M., Tewari, D., Sobarzo-Sánchez, E., Nabavi, S. M., Farzaei, M. H., & Abdollahi, M. (2018). Natural Product-Based Nanomedicines For Wound Healing Purposes: Therapeutic Targets And Drug Delivery Systems. *International Journal Of Nanomedicine*, Volume 13, 5023–5043. <https://doi.org/10.2147/ij.n.S174072>
- Hemagirri, M., & Sasidharan, S. (2022). In Vitro Antiaging Activity Of Polyphenol Rich Polyalthia Longifolia (Annonaceae) Leaf Extract In Saccharomyces Cerevisiae By611 Yeast Cells. *Journal Of Ethnopharmacology*, 290, 115110. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115110>
- Hossain, M. L., Rahman, M. A., Siddika, A., Adnan, M. H., Rahman, H., Diba, F., Hasan, M. Z., & Asaduzzaman, S. M. (2020). Burn And Wound Healing Using Radiation Sterilized Human Amniotic Membrane And Centella Asiatica Derived Gel: A Review. *Regenerative Engineering And Translational Medicine*, 6(3), 347–357. <https://doi.org/10.1007/S40883-019-00122-5>
- Kaltalioglu, K. (2023). Sinapic Acid-Loaded Gel Accelerates Diabetic Wound Healing Process By Promoting Re-Epithelialization And Attenuating Oxidative Stress In Rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 163, 114788. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114788>
- Movaffagh, J., Khatib, M., Fazly Bazzaz, B. S., Taherzadeh, Z., Hashemi, M., Seyedian Moghaddam, A., Tabatabaee, S. Abbas, Azizzadeh, M., & Jirofti, N. (2022). Evaluation Of Wound-Healing Efficiency Of A Functional Chitosan/Aloe Vera Hydrogel On The Improvement Of Re-Epithelialization In Full Thickness Wound Model Of Rat. *Journal Of Tissue Viability*, 31(4), 649–656. <https://doi.org/10.1016/j.jtv.2022.07.009>
- Ngeow, W. C., Tan, C. C., Goh, Y. C., Deliberador, T. M., & Cheah, C. W. (2022). A Narrative Review On Means To Promote Oxygenation And Angiogenesis In Oral Wound Healing. *Bioengineering*, 9(11), 636. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9110636>
- Okselni, T., Septama, A. W., Pamungkas, R. A., Rahmi, E. P., Efdi, M., & Koketsu, M. (2023). A Systematic Review And Meta-Analysis Extraction Techniques To Reach The Optimum Asiaticoside Content From The Edible Plant Of Centella Asiatica. *South African Journal Of Botany*, 155, 261–273.

<https://doi.org/10.1016/J.Sajb.2023.02.019>

- Otsu, T., & Taniguchi, G. (2020). Kolmogorov–Smirnov Type Test For Generated Variables. *Economics Letters*, *195*, 109401. <https://doi.org/10.1016/J.Econlet.2020.109401>
- Rizaoğlu, T. (2018). *Effects Of Ozonated Oils (Sesame Oil, Nigella Sativa Oil And Hypericum Perforatum Oil) On Wound Healing Process In Rats*. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. <https://acikbilim.yok.gov.tr/handle/20.500.12812/403242>
- Ruangchuay, S., Wang, Q., Wang, L., Lin, J., Wang, Y., Zhong, G., Maneenoon, K., Huang, Z., & Chusri, S. (2021). Antioxidant And Antiaging Effect Of Traditional Thai Rejuvenation Medicines In *Caenorhabditis Elegans*. *Journal Of Integrative Medicine*, *19*(4), 362–373. <https://doi.org/10.1016/J.Joim.2021.03.004>
- Shanmugapriya, S., Dineshkumar, T., Rajkumar, K., Rameshkumar, A., Renugalakshmi, A., Alzaharani, K. J., Alnfai, M. M., Alamoudi, A., Ahmed Bahammam, S., Bahammam, M. A., Ali Baeshen, H., & Patil, S. (2023). Evaluating The Efficacy Of *Centella Asiatica* On Enhancement Of Oral Health Status In Hyperglycemic Patients - A Randomized Clinical Trial. *Journal Of King Saud University - Science*, *35*(2), 102479. <https://doi.org/10.1016/J.Jksus.2022.102479>
- Smida, Z., Cucala, L., Gannoun, A., & Durif, G. (2022). A Wilcoxon-Mann-Whitney Spatial Scan Statistic For Functional Data. *Computational Statistics & Data Analysis*, *167*, 107378. <https://doi.org/10.1016/J.Csda.2021.107378>
- Sumioka, T., Iwanishi, H., Yasuda, S., Ichikawa, K., Miyazima, M., Kokado, M., Okada, Y., & Saika, S. (2023). Loss Of Trpv4 Cation Channel Inhibition Of Macrophage Infiltration And Neovascularization In A Mouse Cornea. *Laboratory Investigation*, *103*(5), 100061. <https://doi.org/10.1016/J.Labinv.2022.100061>
- Suzuki, T., Hasegawa, H., Okamoto, K., Shibuya, K., Takahashi, H., Fujiwara, H., Oishi, M., & Fujii, Y. (2023). Superior Visualization Of Neovascularization With Silent Magnetic Resonance Angiography Compared To Time-Of-Flight Magnetic Resonance Angiography After Bypass Surgery In Moyamoya Disease. *World Neurosurgery*. <https://doi.org/10.1016/J.Wneu.2023.04.119>
- Swastini, D. A., Udayana, I. N. K., & Arisanti, C. I. S. (2021). Cold Cream Combination Of *Garcinia Mangostana* L. *Anredera Cordifolia* (Ten.) And *Centella Asiatica* Extracts On Burn Healing Activity Test. *Research Journal Of Pharmacy And Technology*, *14*(5), 2483–2486. <https://doi.org/10.52711/0974-360x.2021.00437>
- Tanga, B. M., Bang, S., Fang, X., Seo, C., De Zoysa, M., Saadeldin, I. M., Lee, S., Park, S. U., Chung, S.-O., Lee, G.-J., & Cho, J. (2022). *Centella Asiatica* Extract In Carboxymethyl Cellulose At Its Optimal Concentration Improved Wound Healing In Mice Model. *Heliyon*, *8*(12), E12031. <https://doi.org/10.1016/J.Heliyon.2022.E12031>
- Terhaar, S. J., Mcdaniel, L., Badger, C., Lee, E., Benito, D., Barak, S., Thakkar, P. G., Goodman, J. F., & Joshi, A. S. (2022). Comparing Postoperative Outcomes Using Electrocautery Versus Cold-Knife De-Epithelialization Of Dermal Fat Graft In Parotidectomy Reconstruction. *American Journal Of Otolaryngology*, *43*(2), 103336. <https://doi.org/10.1016/J.Amjoto.2021.103336>
- Veeruraj, A., Liu, L., Zheng, J., Wu, J., & Arumugam, M. (2019). Evaluation Of

Astaxanthin Incorporated Collagen Film Developed From The Outer Skin Waste Of Squid *Doryteuthis Singhalensis* For Wound Healing And Tissue Regenerative Applications. *Materials Science And Engineering: C*, 95, 29–42. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.10.055>

Wang, Y., Tang, M., Wang, P., Liu, B., & Tian, R. (2022). The Levene Test Based-Leakage Assessment. *Integration*, 87, 182–193. <https://doi.org/10.1016/j.vlsi.2022.06.013>

Yang, J., Liu, X., Wang, W., Chen, Y., Liu, J., Zhang, Z., Wu, C., Jiang, X., Liang, Y., & Zhang, J. (2022). Bioelectric Fields Coordinate Wound Contraction And Re-Epithelialization Process To Accelerate Wound Healing Via Promoting Myofibroblast Transformation. *Bioelectrochemistry*, 148, 108247. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2022.108247>