



Pengaruh Salep Ekstrak Kulit Buah Mangga Arumanis (*Mangifera Indica* L) Terhadap Luka Infeksi *Pseudomonas Aeruginosa* Secara *In-Vivo*

Ifmaily Ifmaily ^{1*}, Sanubari Rela Tobat ², Tiara Febria ³, Putri Rizki Fitriani ⁴

¹⁻³ Universitas Perintis Indonesia, Indonesia

⁴ Universitas Andalas, Indonesia

Alamat : Jl. Adinegoro, Km17,5, kode pos 25171, Kota Padang, Indonesia

Korespondensi penulis : ifmaily.72baru@gmail.com *

Abstract, *Arumanis mango rind is an organic waste that contains secondary metabolites such as flavonoids. Many flavonoids are found in the rind of the arumanis mango, which acts as a very strong antioxidant and has the potential to heal wounds, including infected wounds. This study aims to determine the effect of arumanis mango (Mangifera indica L.) rind extract ointment on healing infected wounds caused by Pseudomonas aeruginosa bacteria, determine the effective concentration for healing infected wounds, and the histopathological descriptions. This research was an experimental study using male white rats which were divided into 5 groups, namely group I (control), group II (Gentamicin), group III (5% concentration), group IV (10% concentration) and group V (15% concentration). The parameters observed were the percentage of healing of infected wounds, epithelialization time, and histopathology. Then the data were analyzed using the ANOVA test followed by Duncan's further test. The results of the study were based on the group order above, from the parameters the average percentage of infected wound healing on 3rd day was 29.73%; 48.84%; 45.95%; 42.81%; 42.33%, on 7th day it was 70.96%; 85.79%; 83.25%; 76.95%; 73.87%, and on the 14th day it was 89.89%; 93.32%; 93.87%; 92.67%; 91.48%. Epithecialization time is 9; 6; 7; 8; 9 (day), for histopathology of fibroblast cells with a score of 1; 3; 3; 2; 2; for collagen fibers 1; 3; 3; 3; 3; for re-epithelialization 2; 3; 2; 2; 2; for inflammatory cells 0; 3; 2; 2; 2. The conclusion of the research is that arumanis mango peel extract ointment (Mangifera indica L.) has an influence on the healing process of wounds infected by Pseudomonas aeruginosa bacteria in male white mice, the most effective concentration and the best histopathological descriptions at a concentration of 5%.*

Keywords: *Rind, Arumanis Mango, Wound infection, Pseudomonas aeruginosa*

Abstrak, Kulit buah mangga arumanis merupakan limbah organik yang mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid. Flavonoid banyak terkandung pada kulit buah mangga arumanis, berperan sebagai antioksidan yang sangat kuat berpotensi sebagai penyembuh luka, termasuk luka infeksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh salep ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) terhadap penyembuhan luka infeksi karena bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, mengetahui konsentrasi efektif terhadap penyembuhan luka infeksi, dan gambaran histopatologinya. Penelitian ini penelitian eksperimental menggunakan tikus putih jantan yang dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok I (kontrol), kelompok II (Gentamicin), kelompok III (konsentrasi 5%), kelompok IV (konsentrasi 10%) dan kelompok V (konsentrasi 15%). Parameter yang diamati yaitu persentase penyembuhan luka infeksi, waktu epitelisasi, dan histopatologi kemudian data dianalisis dengan uji ANOVA diteruskan uji lanjut Duncan. Hasil penelitian berdasarkan urutan kelompok di atas, dari parameter rata-rata persentase penyembuhan luka infeksi pada hari ke-3 adalah 29,73%; 48,84%; 45,95%; 42,81%; 42,33%, pada hari ke-7 adalah 70,96%; 85,79%; 83,25%; 76,95%; 73,87%, dan pada hari ke-14 adalah 89,89%; 93,32%; 93,87%; 92,67%; 91,48%. Waktu epitealisasi adalah 9; 6; 7; 8; 9 (hari), untuk histopatologi dari sel fibroblast dengan skor 1; 3; 3; 2; 2; untuk serabut kolagen 1; 3; 3; 3; 3; untuk re-epitelisasi 2; 3; 2; 2; 2; untuk sel radang 0; 3; 2; 2; 2. Kesimpulan penelitian adalah salep ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) memiliki pengaruh dalam proses penyembuhan luka infeksi oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada tikus putih jantan, konsentrasi paling efektif dan gambaran histopatologi yang terbaik pada konsentrasi 5%.

Kata Kunci: Kulit Buah, Mangga Arumanis, Luka infeksi, *Pseudomonas aeruginosa*

1. PENDAHULUAN

Luka infeksi merupakan salah satu bentuk penyakit infeksi yang menjadi penyebab kematian yang paling banyak terjadi di negara berkembang, salah satunya di Indonesia.

Penyakit infeksi disebabkan oleh bakteri atau mikroorganisme yang bersifat patogen, mikroba masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang biak di dalam jaringan (Novita et al., 2017).

Pseudomonas aeruginosa salah satu bakteri yang menjadi penyebab infeksi yang cukup sering di jumpai, yang merupakan salah satu bakteri gram negatif yang memiliki bentuk batang. Peningkatan kasus infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dikarenakan keefektivitasan terhadap pengobatan, hal ini disebabkan karena bakteri tersebut mengalami resisten terhadap berbagai jenis antibiotik (Diaz et al., 2015). *Pseudomonas aureginosa* tidak boleh diterapi dengan antibiotik tunggal karena angka keberhasilannya sangat rendah, sehingga tergolong bakteri multiresisten.

Pseudomonas aeruginosa sering menyebabkan infeksi hampir di setiap jaringan dan lokasi tubuh seperti sering menginfeksi luka bakar, penyebab meningitis, infeksi saluran kemih, otitis eskternal ringan terhadap perenang, infeksi mata setelah pembedahan dan lainnya. Tidak banyak menimbulkan gejala dan tanda-tanda spesifik, pada sebagian infeksi yang terjadi. (Mayasari,2006). Penyembuhan infeksi bakteri ini dapat dilakukan dengan penggunaan antibiotik saja dikarenakan resisten tersebut sehingga antibiotik yang efektif digunakan di antaranya gentamicin, sefalosporin, dan imipenam. Sampai saat ini bakteri tersebut masih dianggap sebagai patogen yang berbahaya dan mematikan (Mayasari, 2006).

Banyaknya pengobatan alternatif dari bahan alam yang cukup diminati oleh masyarakat dikarenakan sedikit mengalami efek samping oleh karena itu banyak penelitian antibakteri yang dilakukan dari tanaman alam seperti tanaman mangga (Anggraeni et al., 2020). Tanaman mangga juga cukup sering dijumpai dan banyak disukai oleh masyarakat. Mangga (*Mangifera indica*. L) merupakan salah satu dari banyaknya jenis tanaman tingkat tinggi yang berkembang di Indonesia. Salah satu jenis mangga adalah mangga arumanis. Mangga arumanis tersebar di 30 provinsi di Indonesia, dan dimulai dari tahun 2005 dengan luas area sekitar 170.000 ha, total produksi yaitu 1.412.884 ton. Namun banyaknya produksi tanaman mangga tidak diimbangi dengan pemanfaatan yang baik. Umumnya buah mangga hanya dikonsumsi dagingnya saja sedangkan kulit buah dan kulit buahnya dibuang begitu saja (Zulhipri, 2011).

Tanaman mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) memiliki kandungan senyawa fenol, flavonoid, alkaloid, tannin, terpenoid, antrakuinon, asam amino, saponin, kardiakglikosida dan resin serta klorofil. Flavonoid dapat berperan sebagai antibakteri dari hasil metabolit sekundernya. Alkaloid dapat menghambat replikasi sel DNA bakteri sehingga pertumbuhan sel bakteri terganggu (Kunti Mulangsri & Zulfa, 2020)

Penggunaan antibakteri dari bahan alam yaitu tanaman mangga menjadi salah satu solusi. Banyak hasil riset yang menggambarkan aktivitas antibakteri yang kuat dari tanaman obat tradisional seperti ekstrak etanol daun mangga, kulit buah mangga, dan kulit buah mangga yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Anggraeni et al., 2020)

Penyembuhan pada luka bakteri *Pseudomonas aeruginosa* membutuhkan sediaan yang mempunyai daya penetrasi yang baik dan waktu kontak yang lama, dan sediaan farmasi yang tepat dipilih dalam hal ini adalah salep. Salep adalah sediaan setengah padat yang mudah dioleskan dan digunakan sebagai obat luar, bahan obatnya larut atau terdispersi homogen dalam dasar salep yang cocok. Keuntungan utama dari pemberian secara topikal adalah obat memperoleh akses langsung ke jaringan, dengan setidaknya memberikan efek secara lokal, daya lekat dan penetrasi yang baik. (Nur Azizah & Samodra, 2022).

Farizky Jati Ananto, telah melakukan penelitian terhadap penyembuhan luka infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid bekerja sebagai antioksidan yang mampu meminimalisir radikal bebas sehingga proses proliferasi dan kontraksi luka semakin cepat berlangsung. Senyawa saponin juga berperan dalam meningkatkan permeabilitas membrane sehingga terjadi hemolisis sel bakteri, sehingga pada penelitian tersebut senyawa metabolit sekunder dapat membunuh bakteri yang membentuk luka.

Berdasarkan adanya beberapa kandungan senyawa dalam ekstrak kulit buah mangga arumanis yang berpotensi sebagai penyembuhan infeksi bakteri. Informasi tersebut membuat peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan memanfaatkan kulit buah mangga arumanis sebagai penyembuhan luka infeksi dari bakteri *pseudomonas aeruginosa* yang dibuat dalam bentuk sediaan salep. Tujuan penelitian ini untuk melihat pengaruh pemberian salep ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) terhadap proses penyembuhan luka infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada tikus putih jantan. Untuk mengetahui berapa konsentrasi efektif salep ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) terhadap proses penyembuhan luka infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada tikus putih jantan. Untuk melihat gambaran histopatologi dari salep ekstrak kulit buah mangga arumanis terhadap luka infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada tikus putih jantan.

2. METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan dari 10 Oktober 2024 - 10 Februari 2025 yang dilakukan di Laboratorium Kimia Bahan Alam, Laboratorium Farmakologi, Laboratorium

Farmasetika, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia (UPERTIS) dan Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Andalas.

Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini dilakukan secara eksperimental yaitu untuk mengetahui suatu gejala atau pengaruh yang ditimbulkan, sebagai sebab akibat yang ditimbulkan ketika perlakuan tertentu.

Alat dan Bahan

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah cawan porselin, timbangan, pipet tetes, spatula, rotary evaporator, api bunsen, Erlenmeyer, cawan petri, pipet mikro, oven, LAF, tabung reaksi, rak tabung, autoklaf, batang pengaduk, inkubator, kain flannel, kertas pH, corong, botol maserasi, pinset, jangka sorong

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah kulit buah Mangga Arumanis (*Mangifera indica L.*), tikus putih jantan, aquades steril, bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotik gentamisin, vaselin flavum, tikus putih jantan, makanan standar tikus, etanol 70%, BaCl₂ 1%, kloroform, FeCl₃, serbuk Mg, norit, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ 2 N, H₂SO₄(p), HCl(p), H₂SO₄ 1%, kloroform amoniak 0,05 N, aquadest, NaCl 0,9 %, mayer, alkohol 70, 80, 90, 100, *Xylol*, *Hematocylon eosin*

Persiapan Sampel

Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica L.*) yang diambil di Korong Gadang, Kecamatan Kuranji, Kota Padang, Sumatera Barat.

Penyiapan Sampel

Sampel kulit buah mangga arumanis segar sebanyak 2 kg yang didapatkan dan dicuci bersih dengan air mengalir, setelah itu ditiriskan agar kadar air berkurang. Kemudian, kulit buah mangga arumanis dirajang kecil-kecil untuk mempermudah proses pengeringan setelahnya. Selanjutnya, sampel dikeringkan ± 7 hari diangin-anginkan tanpa terkena cahaya matahari secara langsung. Setelah itu, sampel dapat dihaluskan untuk dijadikan serbuk simplisia.

Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Mangga Arumanis

Sampel simplisia kulit buah mangga arumanis yang telah dihaluskan dan ditimbang, akan dimasukkan ke dalam botol gelap untuk dimaserasi dengan cara merendam sampel

dengan pelarut etanol 70% hingga semua sampel terendam. Serbuk simplisia dan pelarut dengan ketentuan perbandingan 1:10 selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Kemudian, hasil proses maserasi dipisahkan dengan cara filtrasi menggunakan kertas saring dan hasil filtratnya ditampung dengan menggunakan kain flanel. Proses penyarian diulang sebanyak 3 kali pengulangan dengan pelarut yang sama. Gabungan hasil maserasi yang diperoleh, uapkan dengan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental.

Evaluasi Ekstrak kulit buah Mangga Arumanis

1. Organoleptis

Pengamatan secara visual dengan mengamati bentuk, warna, bau dan rasa (Depkes 2000).

2. Rendemen

Rendemen dihitung dengan cara membandingkan berat ekstrak etanol yang didapat dengan berat awal sampel (Depkes RI, 2000).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak (g)}}{\text{Berat sampel awal (g)}} \times 100\%$$

3. Penetapan Susut Pengerinan

Krus porselen dan tutupnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 105°C selama lebih kurang 30 menit dan di dinginkan, kemudian ditimbang beratnya. Masukkan ekstrak sebanyak 1 gram ke dalam krus. Kemudian krus digoyangkan agar ekstrak merata dan krus masukkan kembali ke dalam oven, buka tutupnya dan biarkan tutup tetap di dalam oven. Krus yang telah berisi ekstrak tersebut dipanaskan di dalam oven dengan suhu 105°C selama 1 jam. Krus kemudian dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator, lalu ditimbang. Lakukan pengulangan seperti cara di atas hingga diperoleh berat yang konstan (Depkes RI, 2008).

$$\% \text{ Susut Pengerinan} = \frac{(B-A)-(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan: A = Berat krus porselin kosong (g)

B = Berat krus porselin + sampel sebelum dipanaskan (g)

C = Berat krus porselin + sampel setelah dipanaskan (g)

4. Penetapan Kadar Abu Total

Ekstrak etanol kulit buah mangga arumanis ditimbang sebanyak 2 gram, dimasukkan ke dalam krus yang telah dipijarkan kemudian diratakan. Pijarkan perlahan

hingga arang habis, dinginkan di dalam desikator dan timbang beratnya. Kemudian arang tersebut dimasukkan kedalam furnes selama 4-6 jam pada suhu 600°C, hingga terbentuk abu, dinginkan dalam desikator dan timbang berat abu yang didapatkan. Kadar abu dihitung menggunakan rumus (Depkes RI, 2008). Berdasarkan Berdasarkan Kepmenkes RI Nomor 261/Menkes/SK/IV/ 2009 bahwa kadar abu ekstrak tidak boleh lebih dari 10,2 % (Kemenkes RI., 2009).

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan: A = Berat krus porselin kosong

B = Berat krus porselin + sampel sebelum dipijarkan

C = Berat krus porselin + sampel setelah dipijarkan

Skrining Fitokimia Ekstrak

Ekstrak kulit buah mangga arumanis dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 ml aquadest dan 5 ml kloroform dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan air dan kloroform (Harborne, 1987).

1. Uji Flavonoid (Metode *Sianidin test*),

Diuambil 1-2 tetes lapisan air diletakkan di atas plat tetes, ditambahkan sedikit serbuk logam Mg dan beberapa tetes HCl (p), timbulnya warna kuning orange hingga merah menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Kumoro, 2015).

2. Uji Fenolik

Letakkan 1-2 tetes lapisan air pada plat tetes, lalu ditambahkan pereaksi FeCl₃ 1-2 tetes. Terbentuknya warna biru adanya kandungan fenolik (Kumoro, 2015).

3. Uji Saponin

Masukkan lapisan air dalam tabung reaksi, kocok kuat. Apabila terbentuk busa permanen (+15 menit) menunjukkan adanya saponin(Kumoro, 2015).

4. Uji Terpenoid dan Steroid (Metode *simes*)

Lapisan kloroform difiltrasi dengan norit, hasil filtrasi dipipet 2-3 tetes dan biarkan mengering di plat tetes. Setelah kering tambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan satu tetes asam sulfat pekat jika terbentuk warna merah berarti positif terpenoid dan jika berbentuk warna biru atau hijau positif steroid (Kumoro, 2015).

5. Uji Alkaloid

Lapisan kloroform 2-3 tetes ditambah dengan kloroform amoniak dan 1 tetes asam sulfat 2 N, kemudian dikocok kuat dan diamkan sampai terbentuk 2 lapisan. Kemudian ambil lapisan

asam ditambahkan 1 sampai 2 tetes pereaksi mayer, reaksi positif alkaloid ditandai adanya kabut putih atau gumpalan putih (Kumoro, 2015).

6. Uji Tanin

Sebanyak 3 tetes ekstrak dimasukkan kedalam plat tetes dan ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 1%. Uji positif ditunjukkan terbentuknya warna hijau, ungu, biru atau hitam pekat (Kumoro, 2015).

Pembuatan Salep Ekstrak Kulit Buah Mangga Arumanis

Sediaan salep yang akan dibuat dalam penelitian ini memiliki konsentrasi 5%, 10% dan 15% sediaan yang akan dibuat sebanyak 20 g selama 14 hari pengamatan.

Tabel 1. Formula Salep Ekstrak Kulit Buah Mangga Arumanis

Nama Bahan	F0	F1 (5%)	F2 (10%)	F3 (15%)
Ekstrak kulit buah Mangga Arumanis	-	1 g	2 g	3 g
Vaselin Flavum ad 20 g	20 g	19 g	18 g	17 g

Keterangan: F0 = Basis salep (Vaselin flavum) 100%

F1 = Salep ekstrak kulit buah mangga arumanis 5%

F2 = Salep ekstrak kulit buah mangga arumanis 10%

F3 = Salep ekstrak kulit buah mangga arumanis 15%

Masukkan ekstrak kulit buah mangga arumanis ke dalam lumpang kemudian ditimbang dasar salep dan dimasukkan ke dalam lumpang. Gerus hingga homogen. Sediaan dikeluarkan dari lumpang, lalu dimasukkan ke dalam wadah yang sesuai. Basis salep yang digunakan sebagai bahan penutup luka untuk membantu menghindari infeksi dan menjaga kelembaban kulit. Pada penelitian ini, digunakan vaselin flavum yang bersifat sebagai emolient dan moisturizer yang dapat mempertahankan kelembaban kulit.

Contoh Perhitungan Sediaan Salep Ekstrak Kulit Buah Mangga Arumanis:

$$\text{Ekstrak} : \frac{5}{100} \times 20 = 1 \text{ gram}$$

$$\text{Basis} : 20 - 1 = 19 \text{ gram}$$

Evaluasi Salep Ekstrak Kulit Buah Mangga Arumanis

1. Uji Organoleptis

Pengujian organoleptik dilakukan dengan mengamati sediaan salep dari bentuk, bau dan warna sediaan melalui panca indera. Spesifikasi salep yang harus dipenuhi adalah memilih bentuk setengah padat, warna harus sesuai dengan spesifikasi pada saat pembuatan awal salep dan baunya tidak tengik (BPOM RI, 2012).

2. Uji Homogenitas

Uji ini dilakukan dengan mengoleskan salep pada sekeping kaca atau bahan transparan lain yang cocok harus menunjukkan susunan yang homogen. Salep yang homogen ditandai dengan tidak terdapatnya gumpalan atau butiran pada hasil pengolesan, struktur yang rata dan memiliki warna yang seragam dari titik awal pengolesan sampai titik akhir pengolesan. Salep yang diuji diambil tiga tempat yaitu bagian atas, tengah dan bawah dari wadah salep (BPOM RI, 2012).

3. Uji Daya Sebar

Salep ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian diletakkan di tengah-tengah cawan petri yang berada dalam posisi terbalik. Diletakkan cawan petri yang lain di atas salep sebagai beban awal dan dibiarkan selama 1 menit. Setelahnya itu, diameter penyebaran salep diukur. Dilakukan penambahan salep sebanyak 50,0 g dicatat diameter salep yang menyebar selama 1 menit sampai beban tambahan 300,0 g (Garg *et al.*, 2002).

4. Uji pH Salep

Pengukuran nilai pH menggunakan alat bantu pH meter yang sebelumnya sudah dikalibrasi dengan larutan dapar pH 7 dan 4. Elektroda dibilas dengan air suling dan dikeringkan. Kemudian 0,5 g salep yang telah diencerkan dengan 5 mL aquadest dalam wadah yang cocok. Elektroda dicelupkan dalam wadah tersebut, angka yang ditunjukkan merupakan nilai pH salep ekstrak kulit buah mangga arumanis. Nilai pH salep yang baik adalah 4,5-6,5 atau sesuai dengan nilai pH kulit manusia. Uji pH bertujuan untuk mengetahui keamanan dalam pemakaian sediaan pada kulit sehingga tidak mengiritasi kulit (Mursyid, 2017).

5. Uji Viskositas

Uji ini dilakukan untuk mengetahui kekentalan sediaan salep dengan cara menggunakan viskometer digital, uji viskositas dilakukan dengan memasukkan salep ke dalam wadah berbentuk cup kemudian dipasang spindle kemudian diamati hasil viskositas pada angka yang muncul pada alat. Viskometer yang digunakan adalah Viskometer Brookfield® (Mursyid, 2017)

Prosedur Pengujian Aktivitas Penyembuhan Luka Infeksi

Pembuatan Larutan Standar Mc. Farland 0,5

Larutan Mc. Farland 0,5 dibuat dengan komposisi 0,05 mL BaCl₂ 1% dan 9,95 mL H₂SO₄ 1%. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeuhan ini dipakai sebagai standar kekeuhan suspensi bakteri.

Pembuatan Suspensi Uji

Pembuatan suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan dengan cara pengambilan kultur *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan kawat ose steril lalu disuspensikan dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL larutan natrium klorida 0,9% kemudian dihomogenkan dengan menggunakan alat *vortex mixer* dan dibandingkan kekeuhannya dengan Mc Farland skala 0,5.

Pembuatan Luka

Hewan percobaan terlebih dahulu dilakukan perontokkan bulu dibagian punggungnya, kemudian tikus dianastesi dengan menggunakan eter, setelah itu dilakukan tindakan antiseptik dengan mengoleskan alkohol 70% pada daerah punggung yang dirontokkan bulunya untuk mengurangi rasa sakit dan pendarahan. Kemudian dibuat luka berbentuk lingkaran menggunakan scalpel dengan diameter \pm 2 cm dan dalam 0,2 cm. Setelah terbentuk langsung diberikan penginfeksi yaitu bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebanyak 10 μ l dan diinkubasi selama \pm 3 hari. Sediaan uji dan pembanding diberikan setelah tikus positif mengalami infeksi, yang ditandai dengan timbulnya abses atau nanah.

Pengujian Efek Penyembuhan Ekstrak Pada Luka Infeksi

Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan yang telah berumur 2-3 bulan sebanyak 25 ekor dengan berat \pm 200 gram BB. Tikus 25 ekor ini akan dibagi menjadi 5 kelompok besar, dimana tiap-tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Sebelum penelitian ini, untuk membiasakan dengan lingkungan baru, hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari dengan diberi makan dan minum yang cukup. Tikus yang digunakan adalah tikus yang sehat dan tidak menunjukkan perubahan berat badan lebih dari 10% yang berarti serta secara visual menunjukkan perilaku yang normal.

Pengelompokkan Hewan Uji

Hewan dikelompokkan menjadi 5 kelompok pengujian, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor.

- Kelompok I : Tikus yang diberikan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dioleskan basis tanpa ada pemberian ekstrak kulit buah mangga arumanis sebanyak dua kali sehari. (Kontrol negatif)
- Kelompok II : Tikus yang diberikan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dioleskan salep pembanding (beredar di pasaran : Gentamicin) sebanyak dua kali sehari. (kontrol positif)
- Kelompok III : Tikus yang diberikan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dioleskan salep ekstrak kulit buah mangga arumanis dengan (F1) Konsentrasi 5% sebanyak dua kali sehari.
- Kelompok IV : Tikus yang diberikan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dioleskan salep ekstrak kulit buah mangga arumanis dengan (F2) Konsentrasi 10% sebanyak dua kali sehari.
- Kelompok V : Tikus yang diberikan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dioleskan salep ekstrak kulit buah mangga arumanis dengan (F3) Konsentrasi 15% sebanyak dua kali sehari.

Pengujian Aktivitas Penyembuhan Luka

Sediaan salep dioleskan pada bagian punggung tikus, pemakaian 2 kali sehari yang diberikan pada pagi dan sore, yaitu pada jam 08.00 dan 16.00 WIB selama 14 hari. Sediaan diberikan pada masing-masing kelompok sesuai dengan pengelompokkannya. Lalu dilakukan pengamatan parameter penyembuhan luka.

Parameter yang Diukur Pada Penyembuhan Luka Infeksi

Persentase Luas Penyembuhan Luka Infeksi

Persentase luas permukaan luka dengan menghitung luas dengan cara mengambil 4 garis diameter pada sisi luka dan hitung diameter rata-rata luka infeksi pada hari ke 3, 7 dan 14 pada masing-masing kelompok. Dicari persentase luas penyembuhan lukanya dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ penyembuhan luka} = \frac{\text{Luas daerah luka awal} - \text{Luas luka akhir}}{\text{Luas daerah luka awal}} \times 100\%$$

Waktu Epitelisasi

Waktu yang diperlukan untuk terbentuknya epitel baru yang sempurna menutupi daerah luka. 24 jam pertama pada waktu epitelisasi akan ditandai dengan proses penebalan lapisan epidermis pada sekitar tepian luka. Dalam hal ini dicatat hari ke pengelupasan keropeng dari luka tanpa meninggalkan sisa luka di area infeksi.

Histopatologi

Setelah proses uji penyembuhan luka, selanjutnya akan dilakukan uji hispatologi. Parameter yang perlu diperhatikan ialah pengamatan terhadap serabut kolagen pada jaringan luka, pemeriksaan jaringan fibrolas dan reepitalisasi dari jaringan kulit yang telah tumbuh kembali pada hari ke-14. Pada hari ke-15 tikus putih dengan cara dekapitasi yang sebelumnya dilakukan anestesi lalu diambil jaringan kulitnya untuk pembuatan preparat hispatologi. Dari tiap kelompok akan diambil satu sampel tikus yang penyembuhannya paling baik untuk didekapitasi. Dimana proses dekapitasi tikus sebagai berikut :

Pemotongan jaringan basah : sampel jaringan luka infeksi diambil dengan ketebalan \pm 4mm dan dimasukkan ke dalam kaset jaringan. Setelah itu direndam dengan Eosin Y selama 3 hari dan bilas dalam alkohol 70% selama 3 menit. Lalu dehidrasi dengan menggunakan slide pada larutan alkohol bertingkat dari konsentrasi rendah ke tinggi, yaitu : EtOH (Etanol alkohol 90%) selama 3 menit, Absolut 100% etanol selama 3 menit. Selanjutnya, *Clearing* dalam *xylene* selama 3 menit. Lalu, *mounting* dengan entelan dan tutup sediaan dengan cover slip. Kemudian dilakukan pewarnaan menggunakan Hematoksilin-Eosin (HE) untuk pengamatan serabut kolagen dan jumlah fibrolasnya. Pemeriksaan sediaan histo dibawah mikroskop. Setelah sediaan ditutup dengan cover slip kemudian diamati dibawah mikroskop.

Skor penilaian histologis :

1. Kolagen (kriteria Burkit, H. G, 1995, dengan modifikasi)

0 : tidak ada kolagen

1 : kolagen menyebar tipis / sedikit

2 : kolagen meyebar sedang tampak penyatuan serabut

3 : kolagen memadat dan serabut saling terkait sempurna

2. Fibroblast

0 : 0

1 : 5-10 sel

2 : 10-15 sel

3 : > 50 sel

3. Epitelisasi

0 : Absen

1 : Starting

2 : Incomplete

3 : Complete

4. iv. Inflamasi

0 : berat

1 : sedang

2 : ringan

3 : absen

Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini yaitu analisis varian (ANOVA) satu arah dan dua arah. ANOVA ini digunakan karena data yang diperoleh bersifat objektif, kategorik dan numerik. ANOVA satu arah digunakan untuk waktu epitelisasi karena pada parameter ini terdapat satu variable bebas yang dilihat pada variasi dosis. Sedangkan ANOVA dua arah digunakan untuk persentase luas penyembuhan luka infeksi karena terdapat dua variabel bebas yaitu variasi dosis dan waktu. Jika hasil yang diperoleh signifikan ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji Duncan yang bertujuan untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan hasil antara masing-masing kelompok perlakuan. Selanjutnya untuk gambaran histopatologi akan dilakukan secara deskriptif.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Setelah dilakukan penelitian mengenai uji efektivitas salep ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica L.*) terhadap penyembuhan luka infeksi *Pseudomonas aeruginosa* secara in vivo, didapatkan hasil sebagai berikut:

1. Penggunaan tanaman mangga arumanis (*Mangifera indica L.*) dalam penelitian ini yaitu pada bagian kulit buah mangga arumanis.
2. Identifikasi sampel menunjukkan bahwa, sampel yang digunakan dalam melakukan penelitian ini merupakan buah Mangga Arumanis (*Mangifera indica L.*) dari family Anacardiaceae dengan nomor 445/K-ID/ANDA/X/2024.
3. Keterangan lolos kaji etik dengan nomor 640A/KEPK.F2/ETIK/2024 telah menyetujui protokol pada penelitian ini.
4. Identifikasi bakteri menunjukkan bahwa, bakteri yang digunakan dalam melakukan penelitian ini merupakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan nomor 32D/UN 16.2/Lab.Mikro/VI/2024.
5. Secara organoleptis ekstrak kulit buah mangga arumanis berupa cairan kental, berwarna coklat, berbau khas, lengket dan memiliki rasa pahit.

6. Dari 2 kg kulit buah mangga segar memperoleh ekstrak kental 287 gram dari 780 gram sampel kering dengan presentase rendemen 36,78%.
7. Hasil pemeriksaan susut pengeringan dan pemeriksaan kadar abu ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) adalah 5,93% dan 2,28%.
8. Pemeriksaan fitokimia ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) positif mengandung senyawa Flavonoid, fenolik, tanin, saponin, dan terpenoid serta negatif mengandung alkaloid dan steroid.
9. Pengamatan organoleptis salep ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) adalah sediaan salep ekstrak kental, memiliki bau yang khas, serta memiliki warna kuning hingga kuning kecoklatan.
10. Hasil uji pH yang dilakukan terhadap ketiga sediaan salep ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) memiliki pH 5, yang menunjukkan hasil yang sesuai dengan pH kulit yaitu 4,5-6,5.
11. Hasil uji homogenitas salep ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L.), menunjukkan salep homogen yang ditandai dengan tidak timbul gumpalan pada hasil olesan.
12. Hasil Uji daya sebar salep ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) menunjukkan daya sebar *semistatif* dari ketiga konsentrasi salep, yaitu daya sebar 3-5 cm.
13. Hasil Pengukuran Rata-rata Persentase Penyembuhan Luka Infeksi pada Hari ke-3, 7, dan 14

Kelompok Hewan Coba	Rata-rata Persentase Penyembuhan Luka Infeksi hari ke-		
	3	7	14
Kontrol negatif	29,73%	70,96%	89,89%
Pembanding	48,84%	85,79%	93,32%
F1 (konsentrasi 5%)	45,95%	83,25%	93,87%
F2 (konsentrasi 10%)	42,81%	76,95%	92,67%
F3 (konsentrasi 15%)	42,33%	73,87%	91,48%

14. Hasil rata-rata pengamatan waktu epitelisasi dari setiap kelompok
 - a. Kelompok kontrol (-) : 9
 - b. Kelompok pembanding (P) : 6

- c. Kelompok F1 (5%) : 7
- d. Kelompok F2 (10%) : 8
- e. Kelompok F3 (15%) : 9

Kelompok Hewan Coba	Rata-rata Skor Histopatologi Penyembuhan Luka Infeksi			
	Sel Fibroblast	Serabut Kolagen	Re-epitelisasi	Sel radang
Kontrol negatif	1 rendah	1 rendah	2 inkomplit	0 berat
Pembanding	3 tinggi	3 padat	3 komplit	3 rendah
F1 (konsentrasi 5%)	3 tinggi	3 padat	2 inkomplit	2 sedang
F2 (konsentrasi 10%)	2 sedang	3 padat	2 inkomplit	2 sedang
F3 (konsentrasi 15%)	2 sedang	3 padat	2 inkomplit	2 sedang

Pembahasan

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah ekstrak etanol kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica L.*) yang digunakan untuk melihat efektivitas kandungannya terhadap luka infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada tikus putih jantan serta menilai persentase dari penyembuhan luka dari parameter histopatologi. Pada hasil histopatologi akan menunjukkan serabut kolagen, sel fibroblast, re-epitelisasi dan sel radang.

Kulit buah mangga arumanis diambil langsung dari buah mangga arumanis yang diperoleh di daerah Korong Gadang, Kec. Kuranji , Kab. Kota Padang, Sumatera Barat. Tanaman ini juga telah diidentifikasi oleh Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas sebagai spesies *Mangifera indica L.* dari Famili anacardiaceae.

Persiapan awal sampel kulit buah mangga arumanis, akan melewati proses pencucian dan kemudian dikeringkan. Pada proses ini dilakukan sortasi basah dan kering yang berguna untuk menghilangkan kotoran yang ada di sampel. Proses selanjutnya, sampel dirajang dan dimaserasi dengan pelarut etanol 70% yang memiliki fungsi sebagai penarik zat aktif yang

terkandung didalamnya. Pelarut etanol dipilih karena merupakan salah satu pelarut universal yang mampu menarik sebagian besar zat baik yang bersifat polar, semi polar maupun non polar. Tahap selanjutnya hasil maserat akan dipisahkan dari pelarut dengan menggunakan alat *rotary evaporator*, kemudian akan menghasilkan ekstrak kental.

Ekstrak kental yang diperoleh dilakukan evaluasi yang meliputi organoleptis dengan hasil ekstrak berupa cairan kental, memiliki warna coklat sedikit keemasan dan memiliki bau yang khas (Lampiran 5, Tabel 3). Kemudian, akan dilanjutkan dengan pemeriksaan rendemen dengan hasil yang diperoleh 36,78%, dimana menunjukkan nilai rendemen kulit buah mangga lebih dari 10% yang berarti semakin banyak zat yang terkandung didalam ekstrak (Departemen Kesehatan RI, 2008). Proses selanjutnya adalah melakukan pemeriksaan susut pengeringan dengan hasil yang diperoleh sebesar 5,93%, dan hasil yang didapatkan tidak melebihi 10% sehingga memenuhi persyaratan. Pemeriksaan ini menunjukkan persentase batas maksimum senyawa yang hilang selama proses pemanasan, yang menyebabkan air hingga senyawa menguap lainnya presentase penyembuhan luka infeksi dan (Departemen Kesehatan RI, 2008).

Pemeriksaan yang dilakukan selanjutnya adalah kadar abu ekstrak kulit buah mangga arumanis memperoleh hasil persentase sebesar 2,28% yang menunjukkan standar mutu yang tidak lebih dari 5% presentase penyembuhan luka infeksi dan (Departemen Kesehatan RI, 2008). Pemeriksaan kadar abu menggambarkan bagaimana kandungan mineral dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Pemeriksaan yang diujikan selanjutnya adalah skrinning fitokimia yang dilakukan pada ekstrak kulit buah mangga arumanis. Hasil yang didapatkan adalah ekstrak tersebut memiliki kandungan zat aktif berupa flavonoid, fenolik, saponin dan terpenoid.

Penelitian ini melakukan pembuatan formulasi dalam bentuk salep sebagai penyembuh luka infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Sediaan diformulasi menjadi tiga konsentrasi yaitu 5%, 10% dan 15%. Basis salep yang digunakan pada penelitian ini adalah vaselin flavum, dimana basis ini akan menghambat hilangnya kandungan air dari sel kulit dengan membentuk lapisan film yang *waterproof*. Vaselin flavum juga akan menjadi emolien dan moisturizer yang akan mempertahankan kelembaban kulit (Handayani et al., 2017).

Evaluasi salep ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) meliputi uji organoleptis, dimana didapatkan bentuk sediaan setengah padat, berwarna coklat muda dan memiliki bau yang khas. Pada uji pH salep dengan menggunakan kertas pH universal, mendapatkan hasil setiap konsentrasi memenuhi syarat yaitu 5. Adapun pH kulit manusia berkisar 4,5-6,5. Karena apabila pH kulit kurang dari 4,5 maka akan menimbulkan iritasi

terhadap kulit dan apabila pH kulit melebihi 6,5 makan akan membuat kulit terasa kering (Handayani et al., 2017).

Evaluasi salep selanjutnya dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan menggunakan kaca objek dan menunjukkan hasil bahwa sediaan salep homogen, tidak ada butiran kasar atau gumpalan kasar pada kaca objek, sehingga tidak akan menimbulkan iritasi dan terdistribusi merata pada saat penggunaan. Setelah itu, dilakukan pengujian uji daya sebar untuk melihat kemampuan sediaan menyebar di permukaan kulit. Hasil uji daya sebar sediaan salep ekstrak kulit buah mangga arumanis dengan menggunakan kaca bulat dan mendapatkan hasil daya sebar *semistatif* pada ketiga konsentrasi yaitu 3-5 (lampiran 7, Tabel 11). Sediaan salep *semistatif* memiliki arti bahwa viskositas yang dimiliki oleh sediaan salep tinggi, sehingga sediaan sulit untuk terdistribusi secara merata pada kulit (Garg, et al., 2002).

Dalam proses penelitian, peneliti menggunakan hewan uji yang telah mendapatkan izin kode etik dari Komite Penelitian Kesehatan, Universitas Perintis Indonesia dengan nomor 640A/KEPK.F2/ETIK/2024, hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih jantan yang sudah melewati aklimatisasi selama kurang lebih 7 hari serta diberi makan dan minum yang cukup. Sehari sebelum pembuatan luka, bulu tikus dicukur dan disterilkan menggunakan alkohol 70% agar permukaan kulitnya steril. Tikus selanjutnya dianestesi menggunakan eter. Kemudian luka dibuat dibagian punggung menggunakan gunting bedah dan pinset membentuk lingkaran hingga jaringan epidermis terangkat. Ukuran luka memiliki diameter kurang lebih 2-3 cm dengan kedalaman ± 1 mm.

Hewan percobaan yang digunakan sebanyak 25 ekor yang kemudia dibagi dalam 5 kelompok uji, yaitu kelompok 1 kontrol (basis salep), kelompok 2 pembanding (Gentamicin), kelompok 3 (salep konsentrasi 5%), kelompok 4 (salep konsentrasi 10%), kelompok 5 (salep konsentrasi 15%). Setelah hewan uji dilukai, selanjutnya hewan diberikan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebanyak 10 μ l dan diinkubasi selama 3 hari hingga membentuk nanah atau abses, dan selanjutnya hewan diberi perlakuan pemberian salep sesuai masing-masing kelompok setiap 2 kali sehari pada jam 08.00 WIB dan jam 16.00 WIBselama 14 hari, dengan tujuan untuk melihat penyembuhan luka pada fase proliferasi.

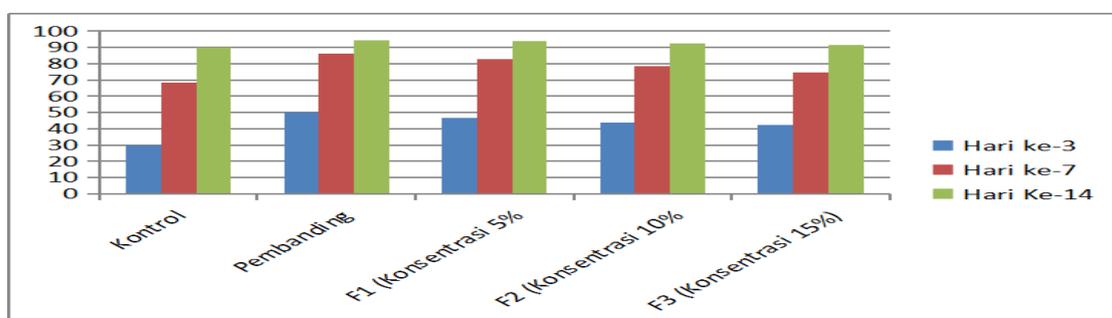
Pada proses awal terjadi luka yaitu sebelum dimulainya fase proliferasi, terlebih dahulu akan dimulai dengan fase hemostatis dan fase inflamasi. Pada fase hemostatis, darah akan mengalir dan mengeluarkan mikroorganismeserta antigen. Lalu, pada fase inflamasi, terjadi peradangan sebagai bentuk pertahanan tubuh, dimana antibodi seperti neutrofil dan makrofag akan berperan dalam mencegah infeksi yang mungkin terjadi (Trinh et al., 2022). Fase proliferasi akan berlangsung pada hari ke 3-21 hari. Fase profilerasi meliputi 3 proses utama

yaitu, neoangiogenesis, pembentukan jaringan granulasi dan re-epitelisasi (Primadina et al., 2019).

Fase pertama pada proliferasi atau disebut dengan neoangiogenesis, akan berawal dari pembentukan pembuluh darah baru (neovaskularisasi) yang berasal dari kapiler-kapiler yang akan muncul dari pembuluh darah kecil disekitar secara alami. Daerah tersebut biasanya akan terlihat bewarna merah (eritema) karena membentuk kapiler-kapiler pada daerah tersebut (Primadina et al., 2019). Fase re-epiteliasasi akan berlangsung pada hari ke 5 hingga 7, dimana sebelum itu fibroblast sudah mulai menghasilkan kolagen dan glikosaminoglikan baru. Proteoglikan ini membentuk inti luka dan membantu menstabilkan luka (Wallace H, A. et al., 2023).

Pada penelitian ini mengumpulkan data parameter penyembuhan luka dengan tiga aspek, yaitu persentase luas penyembuhan luka, waktu epitelisasi dan pemeriksaan jaringan histopatologi. Persentase penyembuhan luka yang diamati yaitu pengukuran luas luka awal dengan pengukuran luas luka pada hari ke-1, hari ke-3, dan ke-14, persentase penyembuhan luka yang tinggi dan baik maka akan ditandai dengan semakin kecilnya ukuran luka. Pada penelitian ini, luka mulai mengecil pada hari ke-5 dimana menandakan fase inflamasi telah berakhir dan akan mulai menyingkirkan jaringan yang mati.

Selama terjadi proses inflamasi tersebut, fase proliferasi juga telah dimulai pada hari ke-3 hingga 14 pasca trauma. Pada pengamatan hari ke 6 hingga 7, terjadi proses re-epiteliasasi yang ditandai dengan pembentukan lapisan keropeng. Awalnya, hanya lapisan sel epitel dangkal yang tipis yang terbentuk, namun lapisan sel yang lebih tebal dan lebih tahan lama akan menjembatani luka seiring berjalannya waktu. Sampai hari ke-11, terus terjadi pengelupasan keropeng dan hingga hari ke-14 mulai menunjukkan bekas luka pada punggung tikus.



Gambar 1. Diagram Persentase Penyembuhan Luka Infeksi

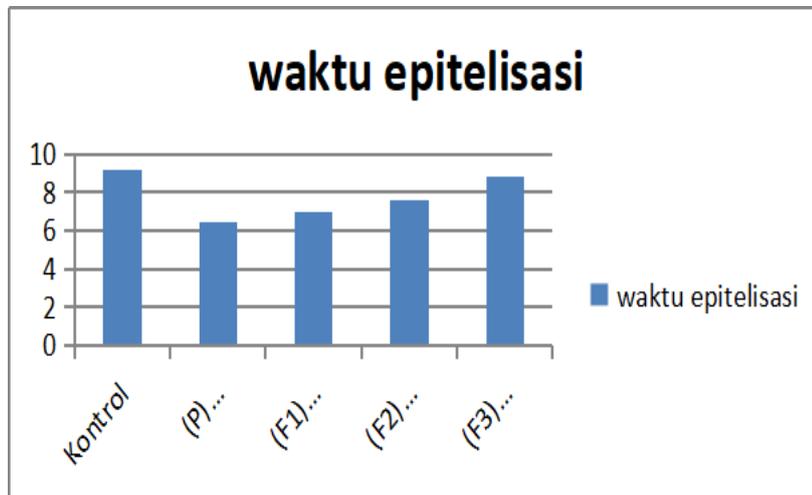
Berdasarkan hasil diagram diatas, hasil pengukuran persentase penyembuhan luka pada hari ke-3 didapatkan bahwa kelompok perlakuan yang dioleskan dengan sediaan salep ekstrak

kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica L.*) konsentrasi 5% memberikan hasil rata-rata persentase penyembuhan luka yang paling besar dibandingkan dengan kelompok kontrol, konsentrasi 10%, dan konsentrasi 15%, dimana menunjukkan rata-rata persentase luas penyembuhan luka adalah 45,95%. Selanjutnya perhitungan rata-rata persentase luas penyembuhan luka pada hari ke-7 didapatkan hasil bahwa kelompok perlakuan yang diberikan salep konsentrasi 5% paling besar dibandingkan dengan konsentrasi lainnya, dimana menunjukkan rata-rata persentase luas penyembuhan luka adalah 83,25%, selanjutnya tahap perhitungan rata-rata persentase penyembuhan luka pada hari ke-14, mendapatkan hasil yang sama yaitu salep ekstrak kulit buah mangga arumanis konsentrasi 5% menunjukkan hasil yang paling besar dibandingkan salep kontrol, konsentrasi 10% dan konsentrasi 15%, yang memiliki rata-rata persentase luas penyembuhan luka adalah 93,87%. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan perlakuan pada masing-masing kelompok mempunyai konsentrasi yang berbeda-beda seperti kandungan kimia seperti flavonoid, saponin, fenolik, alkaloid, dan terpenoid yang terdapat pada kulit buah mangga arumanis merupakan faktor penting dalam penyembuhan luka yang dapat mempengaruhi kecepatan penyembuhan luka dari masing-masing kelompok, sehingga didapatkan hasil yang berbeda untuk tiap kelompok hewan uji.

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji Anova dua arah, dilakukan uji normalitas data mendapatkan hasil $\text{sig.} > 0,05$ menunjukkan data terdistribusi normal, selanjutnya uji homogenitas data mendapatkan hasil $\text{sig.} > 0,05$ menunjukkan data data sudah terdistribusi homogen dan hasil uji anova diakui serta pada uji anova didapatkan hasil nilai yang signifikan sebesar 0.007 ($p < 0.05$), artinya ada perbedaan yang nyata di antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol selanjutnya untuk hari perlakuan mendapatkan hasil 0.000 ($p < 0.05$) menunjukkan bahwa hari pada perlakuan memiliki perbedaan yang nyata dan dilanjutkan dengan uji Duncan, terlihat kelompok Kontrol berbeda nyata dengan kelompok formula ekstrak kulit buah mangga arumanis (KBMA) kelompok formula ekstrak konsentrasi 5%, 10% dan 15% dan kelompok Pembanding. Selanjutnya kelompok formula ekstrak 5% berbeda nyata dengan kelompok kontrol dan formula ekstrak 15%, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok formula ekstrak 10% dan pembanding. Sedangkan pembanding tidak berbeda nyata dengan kelompok formula 5% dan formula 10% namun berbeda nyata dengan kelompok kontrol dan formula ekstrak 15%.

Parameter kedua penyembuhan luka adalah waktu epitelisasi yang dicatat dari hari pertama pengelupasan keropeng tanpa meninggalkan sisa luka. Semakin cepat waktu epitelisasi berlangsung, maka proses penyembuhan luka akan semakin cepat. Dari hasil pengukuran kelompok pembanding salep Gentamicin dan konsentrasi 5% lebih cepat, yaitu pada hari ke-6

hingga ke-7 dibandingkan dengan kelompok kontrol, formula ekstrak 10% dan 15% yang dimulai pada hari ke-8 hingga ke-9. Hal ini dapat dilihat pada gambar diagram batang di bawah ini.



Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji Oneway Anova didapatkan hasil nilai signifikan yang didapat 0.006 ($p > 0.05$), artinya ada perbedaan yang signifikan di antara kelompok perlakuan. Kemudian, hasil uji dilanjutkan dengan uji Duncan dan didapatkan hasil bahwa kelompok kontrol berbeda nyata dengan formula 5% dan perbandingan. Selanjutnya kelompok formula 5% berbeda nyata dengan kelompok kontrol dan formula 15%, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok perbandingan dan kelompok formula 10%. Didapatkan hasil yang berbeda pada waktu epitelisasi disebabkan oleh kandungan kimia dari sediaan uji yang dapat mempengaruhi percepatan tumbuhnya epitel baru.

Keropeng yang terbentuk di atas permukaan membentuk homeostasis dan mencegah kontaminasi luka oleh mikroorganisme. Di bawah keropeng, sel epitel berpindah dari luka ke tepi. Kecepatan terbentuknya keropeng di kelima kelompok perlakuan menandakan kecepatan dari penyembuhan luka. Terbentuknya keropeng merupakan proses awal fase inflamatori pada proses penyembuhan luka. Proses lepasnya keropeng ini bersamaan dengan proses keringnya luka. Hal ini menandakan sudah terjadinya pertumbuhan sel-sel baru pada kulit sehingga membantu mempercepat lepasnya keropeng dan merapatnya tepi luka. Keropeng terlepas karena jaringan dibawahnya sudah kering dan tepi-tepi luka mulai tertarik ke tengah.

Parameter penyembuhan selanjutnya adalah dengan pemeriksaan jaringan histopatologi yang dilakukan untuk melihat dari segi serabut kolagen, sel fibroblast, re-epitelisasi dan sel radang dari jaringan kulit tikus setelah pemberian sediaan selama 14 hari. Setiap kelompok perlakuan akan diambil satu tikus dengan penyembuhan luka terbaik untuk didekapitasi. Tikus akan dianestesi untuk diambil jaringan kulitnya kemudian difiksasi ke dalam larutan formalin

10% dengan tujuan untuk mengawetkan jaringan kulit yang telah diambil. Setelah Fiksasi, dilanjutkan dengan tahap dehidrasi yang bertujuan untuk menghilangkan air dengan merendam jaringan secara berturut-turut dalam larutan alkohol bertingkat (70-100%). Selanjutnya, tahap *clearing* untuk membersihkan jaringan sampai transparan. Dilanjutkan tahap *embedding*, sebagai langkah awal sebelum pemotongan jaringan, dimana jaringan ditanam di dalam paraffin hingga mengeras sehingga memudahkan dalam pemotongan dengan mikrotom. Tahap pemotongan bertujuan untuk memotong jaringan dengan tebal yang sesuai untuk pewarnaan

Parameter penyembuhan berikutnya dengan pemeriksaan jaringan histopatologi untuk melihat dari segi serabut kolagen, sel fibroblast, re-epitelisasi dan sel radang dari jaringan kulit tikus setelah pemberian sediaan selama 14 hari. Setiap kelompok perlakuan akan diambil satu tikus dengan penyembuhan luka terbaik untuk didekapitasi. Tikus akan dianestesi untuk diambil jaringan kulitnya kemudian difiksasi ke dalam larutan formalin 10% dengan tujuan untuk mengawetkan jaringan kulit yang telah diambil. Setelah Fiksasi, dilanjutkan dengan tahap dehidrasi yang bertujuan untuk menghilangkan air dengan merendam jaringan secara berturut-turut dalam larutan alkohol bertingkat (70-100%). Selanjutnya, tahap *clearing* untuk membersihkan jaringan sampai transparan. Dilanjutkan tahap *embedding*, sebagai langkah awal sebelum pemotongan jaringan, dimana jaringan ditanam di dalam paraffin hingga mengeras sehingga memudahkan dalam pemotongan dengan mikrotom. Tahap pemotongan bertujuan untuk memotong jaringan dengan tebal yang sesuai untuk pewarnaan.

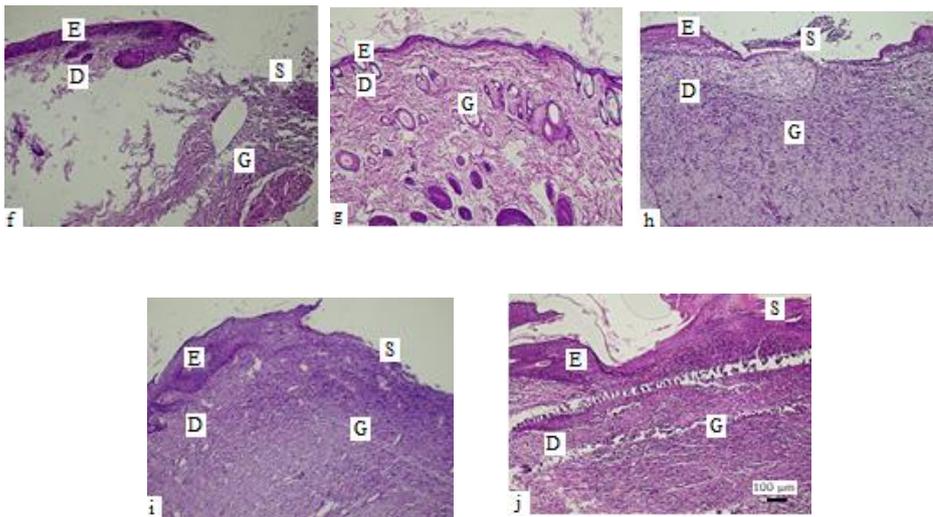
Kemudian dilakukan pewarnaan dengan menggunakan pewarna Hemotoksilin-Eosin (HE) yang bertujuan untuk membedakan bagian atau masing-masing unsur jaringan sehingga bagian seperti lapisan epidermis, dermis, serabut kolagen, fibroblast serta sel radang akan terlihat di mikroskop (Bancroft, 2001) (Drury, 1983)Langkah terakhir yaitu, *mouning* dimana setelah mengalami proses staining atau pewarnaan, sediaan ditutup dengan *deck glass* lalu dikeringkan. Pada setiap kelompok, akan diambil satu tikus untuk didekapitasi dan dilakukan pengamatan histologi jaringan kulit. Hasil pengamatan jaringan didapatkan gambaran histologi re-epitelisasi, sel fibroblast, serabut kolagen dan sel radang dengan berbagai skor sebagai :

Tabel 2. Penilaian skor histopatologi

Kelompok	Re-epitelisasi	Fibroblast	Kolagen	Sel Radang
Kontrol	2	1	1	0
Pembanding	3	3	3	3
F1 (5%)	2	3	3	2
F2 (10%)	2	2	3	2

F3 (15%)	2	2	3	2
----------	---	---	---	---

Pada fase penyembuhan luka, pembentukan jaringan granulasi dalam dermis berperan penting dalam memperbaiki luka. Jaringan yang tergranulasi terbentuk oleh pembuluh darah kapiler dan limfatik ke dalam luka dan kolagen yang disintesis oleh fibroblast dan memberikan kekuatan pada kulit. Sel epitel dan fibroblast akan bergerak kemudian mengeras, memberikan waktu bagi kolagen memperbaiki jaringan yang luka (Purnama et al., 2017).



Gambar 3. Re-epitelisasi Kelompok Perlakuan

Keterangan :

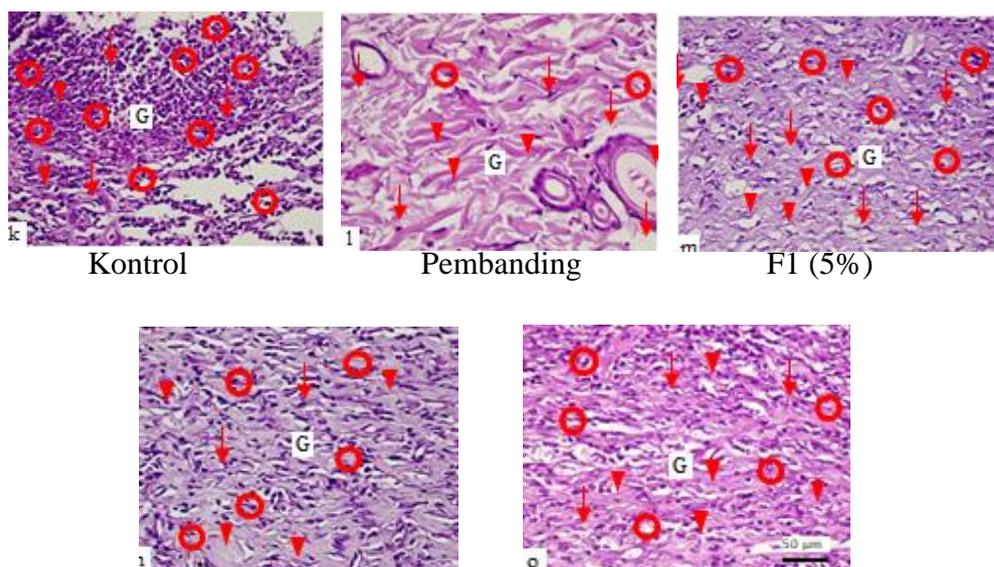
Histologi jaringan kulit hewan coba, memperlihatkan :

Epidermis (E), Dermis (D), Daerah scab (S), Granulasi pasca luka dalam dermis (G)

Suatu luka dikatakan sembuh jika terjadi proses re-epitelisasi yang sempurna, dimana terjadi proses pembentukan jaringan epitel hingga menutupi seluruh permukaan luka. Dari gambar histologi jaringan kulit hewan uji coba dengan perlakuan luka infeksi kelompok kontrol (f,) memperlihatkan daerah epidermis (E) dengan epitelisasi yang inkomplit dengan skor 2 dan ditutupi scab (S). Daerah dermis (D) dengan jaringan granulasi (G) mengandung banyak sel radang. Selanjutnya, histologi jaringan kulit hewan uji dengan perlakuan luka infeksi pada kelompok pembanding Gentamicin (g) memperlihatkan daerah epidermis (E) dengan epitelisasi yang komplit dengan skor 3, granulasi (G) dibawah dermis (D) padat dengan sel fibroblast. Secara keseluruhan hasil pengamatan histologis dari tiga kelompok perlakuan luka infeksi pada kelompok salep ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) dengan formula 5% (h), 10% (i) dan 15% (j) memperlihatkan daerah epidermis (E) dengan epitelisasi yang inkomplit dengan skor 2 diliputi area scab (S), dermis (D) mengandung sebaran sel radang

Berdasarkan hasil histopatologi, pada kelompok perlakuan dengan salep konsentrasi 5% epitelisasi masih inkomplit, namun hampir menutup luka. Sel radang menunjukkan hasil sedang dan kolagen serta fibroblast pada jaringan granulasi menunjukkan hasil padat. Hal ini menunjukkan bahwa gambaran histologis masih dibawah gambaran kontrol obat standar, dan mendapatkan hasil adanya perbaikan epitelisasi, sel radang dan kolagen dibanding kelompok kontrol menunjukkan antibacterial dari ekstrak kulit buah mangga arumanis terhadap luka infeksi *Pseudomonas aeruginosa*.

Namun pada dosis 10% dan 15% ditemui efek yang berbeda, dimana terdapat ulserasi dengan epitelisasi tidak menutup sempurna, terdapat area radang sedang walaupun kolagen dan fibroblast lebih tinggi dibanding kontrol. Hal ini memberikan indikasi adanya efek samping pada dosis tinggi. Berbagai zat aktif memiliki efek bifasik dengan dosis optimal, pada dosis yang tinggi dapat timbul efek kurang menguntungkan. Pada penelitian ini tampak dosis 10% mulai menimbulkan efek samping yang kurang menguntungkan.



Gambar 4. Sel Fibroblast, Serabut Kolagen dan Sel Radang Kelompok Perlakuan (Perbesaran 40x)

Keterangan :

Panah (↓) =Fibroblast; Mata Panah (▼)=Serabut Kolagen; Lingkaran (O)= Sel Radang

Berikutnya pengamatan pada sel fibroblast, serabut kolagen dan sel radang pada setiap kelompok perlakuan. Berdasarkan gambar pengamatan, dari gambar histologi jaringan kulit hewan uji coba dengan perlakuan luka infeksi kelompok kontrol(K) memperlihatkan sel radang(O) berat dengan skor 0. Serat kolagen(▼) rendah dengan skor 1 dan kepadatan fibroblast (↓) rendah dengan skor 1. Pada kelompok pembanding (l), memperlihatkan daerah dermis(D) terdapat sel fibroblast(↓) yang padat dan komplit dengan skor 3. Kemudian, serat

kolagen(▼) padat dengan skor 3 dan sel radang(O) yang rendah dengan skor 3. Secara keseluruhan hasil pengamatan histologis dari tiga kelompok perlakuan luka infeksi pada kelompok salep ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) dengan formula 5% (m), 10% (n) dan 15% (o) memperlihatkan daerah dermis (D) mengandung sebaran sel radang (O) dengan skor 2 pada formula 5%, 10% dan 15%. Kepadatan fibroblast (↓) Tinggi dengan skor 3 pada formula 5%, sedang dengan skor 2 pada formulasi 10%, dan formulasi 15%.

Berdasarkan hasil histopatologi pada jaringan kulit setelah pemberian sediaan selama 14 hari yang telah dilakukan, memperlihatkan bahwa adanya perbedaan dan juga persamaan pada setiap kelompok mulai dari segi epitelisasi, serabut kolagen, fibroblast dan sel radang. Pada hasil memperlihatkan pada kelompok kontrol tampak luka dengan ulkus pada permukaan, epitelisasi sedikit, peradangan tinggi dan jaringan ikat yang longgar. Perlakuan dengan obat standar (Gentamicin) dengan epitelisasi komplit, radang ringan serta kolagen dan fibroblast tinggi. Perlakuan dengan pemberian salep kulit buah mangga arum manis memperlihatkan epitelisasi dan kolagen serta fibroblast yang lebih baik, disertai radang yang lebih rendah dibanding kontrol, Epitelisasi pada dosis 5 % memperlihatkan epitelisasi inkomplit namun lebih baik dibanding dosis lainnya. Kesan perbaikan paling baik secara histologis ditemukan pada konsentrasi 5%.

Pemeriksaan jumlah sel fibroblast, dimana fibroblast memiliki peranan dalam memproduksi matriks ekstraseluler (ECM) yang akan mengisi kavitas luka dan menyediakan landasan untuk migrasi kreatinosit. ECM awalnya dari kolagen tipe III, yang merupakan bentuk kolagen yang lebih lemah dan dapat diproduksi dengan cepat yang pada akhirnya digantikan oleh kolagen tipe I yang lebih kuat pada akhir penyembuhan luka dan pembentukan bekas luka. Tanda kesembuhan luka yaitu dengan adanya pembentukan kolagen yang memiliki peranan penting pada proses penyembuhan luka (Paramita, 2016).

Adanya peningkatan jumlah fibroblast menunjukkan efek perangsangan sintesa kolagen dan proliferasi fibroblast, sedangkan berkurangnya sel radang menunjukkan adanya efek antiinflamasi. Kolagen di sintesa terutama oleh fibroblast dengan menghasilkan bahan dasar serat kolagen yang akan mempertautkan tepi luka. Migrasi fibroblast pada area perlukaan distimulasi oleh transforming growth factor β (TGF- β), yaitu faktor pertumbuhan yang dihasilkan oleh jaringan granulasi yang terbentuk selama proses inflamasi (Kanzaki et al., 1998).

Dari hasil uji histopatologi dapat dikatakan bahwasanya salep ekstrak kulit buah mangga arumanis memiliki efek penyembuhan luka yang baik, dapat dilihat dari gambaran histopatologi luka pada sampel percobaan. Efek yang paling baik adalah salep dengan konsentrasi 5% dibandingkan dengan konsentrasi 10% dan konsentrasi 15%. Konsentrasi 5% memberikan penyembuhan luka yang baik.

Berdasarkan uraian diatas pemberian salep ekstrak kulit buah mangga arumanis memperlihatkan efek yang sama dengan kelompok pembanding yakni penurunan sel radang disertai kolagenisasi dan peningkatan fibroblast yang lebih padat. Hal ini memberikan efek anti inflamasi dengan menghambat peradangan dan efek perangsangan proliferasi maupun aktifitas fibroblast. Hal ini dikarenakan sediaan ekstrak kulit buah mangga arumanis memiliki kandungan kimia yang hampir sama dengan sediaan pembanding Gentamicin . Dimana sediaan ekstrak kulit buah mangga arumanis mengandung senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, tanin, terpenoid sedangkan sediaan pembanding Gentamicin yang berasal dari ekstrak herba *Micromonospora purpurea* yang positif juga mengandung senyawa flavonoid, fenolik, minyak atsiri.

Bioaktivasi senyawa alami yang terkandung dalam ekstrak kulit buah mangga arumanis diantaranya berperan sebagai antioksidan, antiinflamasi dan antibakteri. Antioksidan berperan dalam pengaruh stres oksidatif yaitu mengatur keseimbangan antara pro-oksidan atau radikal bebas dan antioksidan yang berfungsi dalam mempertahankan kondisi terhadap kerusakan jaringan yang melibatkan sel penghasil Reactive Oxygen Species (ROS). Semakin tinggi ROS maka tingkat radikal bebas juga semakin tinggi sehingga stres oksidatif terjadi (Arief & Widodo, 2018). Senyawa seperti flavonoid, tanin, terpenoid dan fenolik, ditemukan dalam kulit buah mangga arumanis ini. Flavonoid dengan gugus hidroksilnya berperan penting sebagai efek antibakteri, antifibrotik, antioksidan dan antiinflamasi, melindungi sel-sel dari kerusakan oksidatif pada penyembuhan luka dengan menghambat stress oksidatif ROS (Zulkefli et al., 2023).

Kemudian, salah satu turunan dari tepenoid yaitu lupeol yang ditemukan di tanaman seperti mangga, kedelai dan zaitun, berperan aktif dalam penyembuhan luka. Penelitian yang dilakukan Fernando et.al, mengidentifikasi bahwa senyawa lupeol dapat mempengaruhi sitokin proinflamasi seperti mengurangi TNF- α , IL β dan IL-6) serta meningkatkan ekspresi IL-10. Lupeol triterpen juga terbukti dapat meningkatkan faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) dan faktor pertumbuhan epidermal (EGF) dan meningkatkan ekspresi gen transforming growth factor beta-1 (TGF- β 1) setelah 7 hari (Beserra et al., 2020).

Senyawa alami dalam ekstrak kulit buah mangga arumanis lainnya seperti tanin, saponin dan magiferin terbukti berperan aktif dalam penyembuhan luka. Tanin berfungsi sebagai antibakteri dengan menghambat pertumbuhan bakteri serta mempercepat penutupan luka. Kandungan saponin yang teridentifikasi dalam ekstrak kulit buah mangga arumanis berperan mendorong migrasi sel fibroblast serta meningkatkan promosi deposisi kolagen, sehingga menyebabkan kontraksi luka dan indurasi pada parut akhirnya membentuk kolagen tipe I dalam proses penutupan luka dan meningkatkan epitelisasi jaringan (Trinh et al., 2022).

Selain itu, saponin berperan sebagai antibakteri dengan mendenaturasi protein dan merusak membran permeabilitas bakteri. Pemberian salep ekstrak kulit buah mangga arumanis memperlihatkan efek yang efek penyembuhan yang mendekati salep pembanding berupa kolagenisasi dan peningkatan fibroblast yang lebih padat. Hal ini mengindikasikan adanya efek antiinflamasi dengan menekan peradangan dan efek perangsangan pada proliferasi maupun aktivitas fibroblast. Efek antiinflamasi lebih terlihat pada salep dengan dosis terendah yakni formula salep konsentrasi 5%, namun pada dosis yang tinggi yaitu formula salep konsentrasi 10% dan 15% mengalami peningkatan sel radang. Fenomena ini disebut sebagai hormesis, yaitu respon dosis bifasik yang ditandai dengan adanya efek stimulus atau efek menguntungkan pada dosis rendah dan efek penghambatan atau toksik pada dosis tinggi, sehingga munculnya efek yang saling berkebalikan dari suatu senyawa atau herbal pada rentang dosis yang berbeda. Pada sediaan salep ekstrak kulit buah mangga arumanis diduga adanya kandungan zat lain yang bersifat iritan dan merangsang timbulnya inflamasi pada dosis tinggi terutama pada kontak langsung luka sayatan yang tidak memiliki permukaan sebagai barrier seperti perlakuan luka infeksi dalam penelitian ini.

Selain flavonoid, alkaloid juga mempunyai kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Saponin memiliki kemampuan sebagai pembersih dan antiseptik yang berfungsi membunuh kuman atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang biasa timbul pada luka sehingga luka tidak mengalami infeksi parah. Terpenoid berfungsi dalam menstimulasi pembentukan sel-sel baru yaitu dengan menghambat produksi jaringan luka yang berlebihan. Senyawa fenolik berinteraksi dengan protein membrane sel yang menyebabkan terdenaturasinya protein membran sel. Kerusakan pada membran sel menyebabkan perubahan permeabilitas pada membrane, sehingga mengakibatkan lisisnya membrane bakteri (Syahruramadhan, dkk 2016).

4. KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini adalah:

Salep ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica L.*) memiliki pengaruh dalam proses penyembuhan luka infeksi oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada tikus putih jantan. Konsentrasi paling efektif dari pemberian konsentrasi salep ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica L.*) terhadap penyembuhan luka infeksi disebabkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu konsentrasi 5%. Pemberian konsentrasi yang berbeda salep ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica L.*) selama 14 hari dari parameter persentase penyembuhan luka dan gambaran histopatologi gambaran yakni re-epitelisasi, sel radang dan kolagen serta fibroblast memperlihatkan konsentrasi 5% merupakan konsentrasi terbaik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah AS, Mohammed AS, Abdullah R, Mirghani ME, Al-Qubaisi M. Cytotoxic effects of *Mangifera indica L.* kernel extract on human breast cancer (MCF-7 and MDA-MB-231 cell lines) and bioactive constituents in the crude extract. *BMC Complement Altern Med.* 2014 Jun 25;14:199. doi: 10.1186/1472-6882-14-199. PMID: 24962691; PMCID: PMC4077144.
- Abdullah AS, Mohammed AS, Rasedee A, Mirghani ME. (2015) Oxidative stress-mediated apoptosis induced by ethanolic mango seed extract in cultured estrogen receptor positive breast cancer MCF-7 cells. *Int J Mol Sci.* Feb 5;16(2):3528-36. doi: 10.3390/ijms16023528. PMID: 25664859; PMCID: PMC4346911.
- Abubakar AR, Haque M. (2020)Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *J Pharm Bioallied Sci*;12:1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19.
- Ayyun K, Khafidz Y, Rosydah I, Atikah N, Arianti SP. (2023) Artikel Riview : Profil Studi Fitokimia Dan Aktivitas Farmakologi Buah Mangga (*Mangifera Indica L.*);01:60–8.
- Budny A, Starosławska E, Budny B, Wójcik R, Hys M, Kozłowski P, et al. (2019) Epidemiology and diagnosis of breast cancer. *Pol Merkur Lekarski*;46:195–204.
- CCRC. (2014) Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT : Preparasi Sampel. *Cancer Chemoprevention Res Cent* :1–8.
- Chen N, Ritsma LMA, Vrisekoop N. (2019) In vivo characteristics of human and mouse breast tumor cell lines. *Exp Cell Res.* Aug 1;381(1):86-93. doi: 10.1016/j.yexcr.2019.04.009. Epub 2019 Apr 10. PMID: 30980788.
- Dutta T, Das T, Gopalakrishnan AV, Saha SC, Ghorai M, Nandy S, Kumar M, Radha, Ghosh A, Mukerjee N, Dey A. (2023) Mangiferin: the miraculous xanthone with diverse

- pharmacological properties. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* May;396(5):851-863. doi: 10.1007/s00210-022-02373-6. Epub 2023 Jan 19. PMID: 36656353.
- Ediriweera MK, Tennekoon KH, Samarakoon SR, Thabrew I, Dilip DE Silva E. (2016) A study of the potential anticancer activity of *Mangifera zeylanica* bark: Evaluation of cytotoxic and apoptotic effects of the hexane extract and bioassay-guided fractionation to identify phytochemical constituents. *Oncol Lett.* Feb;11(2):1335-1344. doi: 10.3892/ol.2016.4087. Epub 2016 Jan 8. PMID: 26893740; PMCID: PMC4734308.
- Kalliokoski T, Kramer C, Vulpetti A, Gedeck P. (2013) Comparability of mixed IC₅₀ data - a statistical analysis. *PLoS One.* Apr 16;8(4):e61007. doi: 10.1371/journal.pone.0061007. PMID: 23613770; PMCID: PMC3628986.
- Kemenkes RI. (2017) Farmakope Herbal Indonesia Edisi 2 :561.
- Khaleel S, Al-Hiari Y, Kasabri V, Haddadin R, Albashiti R, Al-Zweri M, Bustanji Y. (2022) Antiproliferative Properties of 7,8-Ethylene Diamine Chelator-Lipophilic Fluoroquinolone Derivatives Against Colorectal Cancer Cell Lines. *Anticancer Agents Med Chem.* 2022;22(5):1012-1028. doi: 10.2174/1871520621666210623111744. PMID: 34165411.
- Kumar P, Nagarajan A, Uchil PD. (2018) Analysis of Cell Viability by the MTT Assay. *Cold Spring Harb Protoc.* Jun 1;8(6). doi: 10.1101/pdb.prot095505. PMID: 29858338.
- Li H, Huang J, Yang B, Xiang T, Yin X, Peng W, Cheng W, Wan J, Luo F, Li H, Ren G. (2013) Mangiferin exerts antitumor activity in breast cancer cells by regulating matrix metalloproteinases, epithelial to mesenchymal transition, and β -catenin signaling pathway. *Toxicol Appl Pharmacol.* Oct 1;272(1):180-90. doi: 10.1016/j.taap.2013.05.011. Epub 2013 May 22. PMID: 23707762.
- Maldonado-Celis ME, Yahia EM, Bedoya R, Landázuri P, Loango N, Aguillón J, Restrepo B, Guerrero Ospina JC. (2019) Chemical Composition of Mango (*Mangifera indica* L.) Fruit: Nutritional and Phytochemical Compounds. *Front Plant Sci.* Oct 17;10:1073. doi: 10.3389/fpls.2019.01073. PMID: 31681339; PMCID: PMC6807195.
- Morozkina SN, Nhung Vu TH, Generalova YE, Snetkov PP, Uspenskaya MV. (2021) Mangiferin as New Potential Anti-Cancer Agent and Mangiferin-Integrated Polymer Systems-A Novel Research Direction. *Biomolecules.* Jan 9;11(1):79. doi: 10.3390/biom11010079. PMID: 33435313; PMCID: PMC7827323.
- Musthika N, Mashitah W, Kep S, Biomed M. (2018) Cegah Kanker Payudara dengan SADARI
- Park A, Joo M, Kim K, Son WJ, Lim G, Lee J, Kim JH, Lee DH, Nam S.(2022) A comprehensive evaluation of regression-based drug responsiveness prediction models, using cell viability inhibitory concentrations (IC₅₀ values). *Bioinformatics.* May 13;38(10):2810-2817. doi: 10.1093/bioinformatics/btac177. PMID: 35561188.
- Qashou E, Al-Hiari Y, Kasabri V, AlBashiti R, AlAlawi S, Telfah A, AlHadid A.(2022) Antiproliferative Activities of Lipophilic Fluoroquinolones- Based Scaffold Against a Panel of Solid and Liquid Cancer Cell Lines. *Asian Pac J Cancer Prev.* May

1;23(5):1529-1537. doi: 10.31557/APJCP.2022.23.5.1529. PMID: 35633535; PMCID: PMC9587871.

Quintana SE, Salas S, García-Zapateiro LA. (2021) Bioactive compounds of mango (*Mangifera indica*): a review of extraction technologies and chemical constituents. *J Sci Food Agric*. 2021 Dec;101(15):6186-6192. doi: 10.1002/jsfa.11455. Epub Aug 11. PMID: 34324201.

Ratnasari J, Tan MI, Esyanti RR, Juliawaty LD. (2023) Cryptobrachytone C from *Cryptocarya pulchrinervia* (Kosterm) Leaves on Proliferation, Apoptosis, Migration and Clonogenicity of MCF-7 and T47D Cell Lines. *Trop Life Sci Res*. Jun;34(2):223-241. doi: 10.21315/tlsr2023.34.2.11. Epub 2023 Jul 21. PMID: 38144382; PMCID: PMC10735263.

Reddeman RA, Glávits R, Endres JR, Clewell AE, Hirka G, Vértesi A, Béres E, Szakonyiné IP. (2019) A Toxicological Evaluation of Mango Leaf Extract (*Mangifera indica*) Containing 60% Mangiferin. *J Toxicol*. Aug 1;2019:4763015. doi: 10.1155/2019/4763015. PMID: 31467524; PMCID: PMC6699309.

Ryu M, Matsumura R, Quan G, Furuta T. (2013) Comparison of the cytotoxicity of high-level disinfectants by the MTT assay and direct contact assay. *Biocontrol Sci*. ;18(4):221-5. doi: 10.4265/bio.18.221. PMID: 24366629.

Safitri RA, Saptarini O, Sunarni T. (2021) Uji Aktivitas Sitotoksik, Ekspresi p53, dan Bcl-2 dari Ekstrak Fraksi Herba Kelakai (*Stenochleana palustris* (Burm.F.) Bedd.) terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *J Biotek Medisiana Indonesia* ;9:113–27. <https://doi.org/10.22435/jbmi.v9i2.4415>.

Salih MAF, Al-Hiari Y, Kasabri V, Darwish R, Abumansour H, Bourghli L, Al Alawi S, Albashiti R. (2022) Newly Substituted Anilino-Fluoroquinolones with Proliferation Inhibition Potential against a Panel of Cancer Cell Lines. *Asian Pac J Cancer Prev*. Jul 1;23(7):2507-2521. doi: 10.31557/APJCP.2022.23.7.2507. PMID: 35901360; PMCID: PMC97273

Taswin M, Toyibah U. (2020) Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Mangga Arumanis (*Mangifera Indica L*. Var. Arumanis) Dengan Metode Dpph. *JKPharm J Kesehat Farm*;2:60–8. <https://doi.org/10.36086/jkpharm.v2i1.1771>.

Wilkinson L, Gathani T. (2021) Understanding breast cancer as a global health concern. *Br J Radiol* 2022;95:20211033. <https://doi.org/10.1259/bjr.1033>.

Yap KM, Sekar M, Seow LJ, Gan SH, Bonam SR, Mat Rani NNI, et al. (2021) *Mangifera indica* (Mango): A promising medicinal plant for breast cancer therapy and understanding its potential mechanisms of action. *Breast Cancer Targets Ther*;13:471–503. <https://doi.org/10.2147/BCTT.S316667>.

Yudistira A. (2017) Uji Aktivitas Anti Kanker Payudara Ekstrak Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* vahl.) terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Pharmacon J Ilm Farm* ;6:45–51.

Zhang J, Song Z, Liu Q, Song Y. (2020) Recent advances in dielectrophoresis-based cell viability assessment. *Electrophoresis*. 2020 Jun;41(10-11):917-932. doi: 10.1002/elps.201900340. Epub Jan 12. PMID: 31808164.