

Konsentrasi *Basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF) dan *Transforming Growth Factor-Beta 1* (TGF- β 1) pada Penyembuhan Luka Kulit Tikus

(Studi Kasus pada Tikus yang Diterapi Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis))

Anggi Puspa Nur Hidayati^{1*}, Wira Alwysaputro², Afif Ramdisa², Restu Syamsul Hadi^{1,2}

Pusat Penelitian Sel Punca, Lembaga Penelitian Universitas YARSI Jakarta, Indonesia¹

Fakultas Kedokteran, Universitas YARSI Jakarta, Indonesia²

E-mail: anggi.puspa@yarsi.ac.id

Abstract

Acceleration of wound healing is now becomes a trend center for many researcher to explore various herbs which are containing compounds that can affecting some factors involved in wound healing process. Growth factors is one of the marker that can be analyzed whether a certain herb can accelerate wound healing. To better understand how a certain herb invloved in the acceleration of wound healing, a growth factors-study was conducted. Archived skin tissue of rats from previous study (unpublished) which were been treated with *Anredera cordifolia* (Binahong) extract were used, and subjected to enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to quantify bFGF and TGF- β 1. The results obtained was then analyzed descriptively between the control group (Binahong-untreated) and treatment group (Binahong-treated). The ELISA results showed no significant difference of bFGF and TGF- β 1 concentration between control group (Binahong-untreated) and treatment group (Binahong-treated). However, the concentration of bFGF dan TGF- β 1 on day 14 were decreasing compared with those concentration on day 7, assumed the wound healing phase has already entering the next phase where the production of bFGF and TGF- β 1 have been replaced with other growth factors involved in wound healing process

Keywords: ELISA, fibroblast growth factor, transforming growth factor, wound healing

Abstrak

Percepatan penyembuhan luka kini menjadi *trend center* bagi banyak peneliti untuk mengeksplorasi berbagai herbal yang mengandung senyawa yang dapat mempengaruhi beberapa faktor yang terlibat dalam proses penyembuhan luka. Faktor pertumbuhan merupakan salah satu penanda yang dapat dianalisis apakah ramuan tertentu dapat mempercepat penyembuhan luka. Untuk lebih memahami bagaimana ramuan tertentu terlibat dalam percepatan penyembuhan luka, studi faktor pertumbuhan dilakukan. Jaringan kulit tikus yang diarsipkan dari penelitian sebelumnya (tidak dipublikasikan) yang telah diobati dengan ekstrak *Anredera cordifolia* (Binahong) digunakan, dan dilakukan uji *imunosorben* terkait-enzim (ELISA) untuk mengukur bFGF dan TGF- β 1. Hasil yang diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif antara kelompok kontrol (tidak diberi perlakuan Binahong) dan kelompok perlakuan (diberi perlakuan Binahong). Hasil ELISA menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dari konsentrasi bFGF dan TGF- β 1 antara kelompok kontrol (tidak diobati Binahong) dan kelompok perlakuan (diperlakukan Binahong). Namun konsentrasi bFGF dan TGF- β 1 pada hari ke-14 mengalami penurunan dibandingkan dengan konsentrasi pada hari ke-7, dengan asumsi fase penyembuhan luka sudah memasuki fase selanjutnya dimana produksi bFGF dan TGF- β 1 sudah tergantikan oleh *growth factor* lainnya. terlibat dalam proses penyembuhan luka

Kata Kunci: ELISA, fibroblast growth factor, transforming growth factor, penyembuhan luka

Naskah masuk: 29 Maret 2022, Naskah direvisi: 15 Desember 2022, Naskah diterima: 08 Maret 2023

Naskah diterbitkan secara online: 30 April 2023

©2022/ Penulis. Artikel ini merupakan artikel dengan akses terbuka di bawah lisensi CC BY-SA

(<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0>)

1. Pendahuluan

Kulit merupakan organ terluas yang menyusun tubuh organisme, terdiri atas tiga lapisan utama yaitu *epidermis*, *dermis*, dan *hipodermis* (Andreu et al., 2015). Kulit berfungsi sebagai pembatas atau pelindung jaringan dalam dari “lingkungan luar” (Agarwal et al., 2009), baik secara fisik maupun biokimia seperti menjaga dari kontak patogen atau dari kehilangan air (Andreu et al., 2015). Oleh karena fungsinya yang penting sebagai pelindung maka apabila terjadi perubahan atau kerusakan seperti luka pada kulit, dibutuhkan proses penyembuhan yang cepat untuk menghindari infeksi bakteri atau kerusakan yang lebih parah (Andreu et al., 2015).

Pada dasarnya, proses penyembuhan luka dapat terjadi dengan sendirinya sebagai respon alami dari tubuh. Namun, untuk kenyamanan subjek yang mengalami luka serta untuk menghindari efek yang lebih serius seperti risiko kontak dengan patogen maka terapi obat yang dapat meringankan atau mempercepat proses penyembuhan luka menjadi salah satu tindakan yang sering dilakukan baik di lingkungan medis maupun masyarakat umum.

Jenis terapi obat yang digunakan bermacam-macam, tergantung pada jenis luka dan bagian tubuh yang mengalami luka. Saat ini, jenis terapi tanaman herbal banyak dipilih oleh masyarakat, selain karena minimnya efek samping yang ditimbulkan, juga dipercaya lebih efektif dan ekonomis sehingga perkembangan penelitian tanaman herbal kini menjadi menarik untuk dilakukan oleh peneliti-peneliti di berbagai negara.

Masyarakat di negara - negara Asia Tenggara menggunakan tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) untuk mengobati berbagai penyakit (Sutrisno et al., 2018), salah satunya untuk menyembuhkan luka (Kintoko dan Desmayanti, 2015). Daun Binahong diketahui dapat mempercepat penyembuhan luka karena kandungan senyawanya, yaitu flavonoid, saponin, tanin, dan asam askorbat (Yuniarti dan Lukiswanto, 2017).

Flavonoid berfungsi sebagai anti-inflamasi; anti-oksidan; dan anti-mikroba, saponin berfungsi sebagai antiseptik serta stimulasi pembentukan kolagen, tanin berfungsi sebagai zat yang dapat memperkecil pori-pori dan menghentikan pendarahan, sedangkan asam askorbat berfungsi mengaktivasi *prolyl hydroxylase* pada proses hidroksilasi deposisi kolagen (Wijayanti dan Esti, 2017; Yuniarti dan Lukiswanto, 2017).

Banyak faktor yang bisa dijadikan penanda (*marker*) bahwa suatu tanaman herbal dapat mempercepat penyembuhan luka, diantaranya yang bisa dianalisis adalah faktor pertumbuhan (*growth factors*). *Growth factor* adalah *protein regulator* yang berperan penting dalam *signaling pathways* serta proses regenerasi dan perbaikan sel. *Growth factor* bekerja pada tingkat membran sel, mengaktivasi serangkaian reaksi biokimia yang dapat menstimulasi transkripsi *cyclin-dependent kinase* pada inti sel (de Araújo et al., 2019).

Proses penyembuhan luka, *growth factor* dihasilkan oleh makrofag saat proses inflamasi, hal ini bertujuan untuk menstimulasi *angiogenesis*, *fibrogenesis*, migrasi sel, *proliferasi*, dan pembentukan matriks jaringan (Aspriyanto et al., 2017). *Growth factor* merupakan kelompok protein dengan banyak famili yang dibedakan berdasarkan struktur dan evolusinya, dua diantaranya yang berperan dalam penyembuhan luka adalah *basic fibroblast growth factor* (bFGF) dan *transforming growth factor-beta 1* (TGF- β 1) (de Araújo et al., 2019).

Beberapa penelitian mengenai pengaruh tanaman herbal Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap penyembuhan luka telah dilakukan oleh Wijayanti dan Esti, 2017 yang menunjukkan bahwa air rebusan daun Binahong memberikan penyembuhan luka yang lebih efektif pada luka pasca melahirkan. Penelitian Yuniarti dan Lukiswanto, 2017 melaporkan salep ekstrak Binahong efektif dalam penyembuhan luka bakar. Sukrama et al., 2017 juga melaporkan bahwa ekstrak daun Binahong dapat meningkatkan produksi

growth factor yang terlibat dalam penyembuhan luka. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, dalam penelitian kali ini penulis ingin menggali lebih dalam bagaimana suatu tanaman herbal bisa dikatakan berpengaruh terhadap percepatan penyembuhan luka. Melalui analisis konsentrasi *growth factors* (bFGF dan TGF- β 1) dengan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA), penelitian ini bertujuan untuk melihat bagaimana konsentrasi kedua *growth factors* tersebut pada luka tikus yang sudah diterapi oleh tanaman herbal Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

2. Metode

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif menggunakan sampel kulit tikus pada penelitian sebelumnya (*unpublished*), yang telah dilukai dan diterapi ekstrak daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) secara peroral

2.1 Metode Pengumpulan Data

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel kulit tikus dari penelitian sebelumnya yang sudah dipreservasi dalam *cryotube* berisi larutan PBS 1x dan disimpan di dalam *freezer* -80° C. Pada tahun 2019 telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak daun Binahong terhadap percepatan penyembuhan luka kulit tikus secara makroskopis dan mikroskopis. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, secara mikroskopis luka kulit tikus yang diterapi dengan ekstrak daun Binahong dosis 200 mg menunjukkan penyembuhan yang paling cepat.

Dalam penelitian ini hanya dipilih dan diproses sampel kulit tikus dari kelompok kontrol (tanpa pemberian ekstrak daun Binahong) dan dari kelompok perlakuan ekstrak daun Binahong 200 mg pada hari ke-7 dan ke-14. Oleh karena keterbatasan jumlah sampel dari penelitian sebelumnya maka jumlah sampel yang dapat diproses dalam penelitian ini adalah satu ($n = 1$) per kelompok.

Kuantifikasi Faktor Pertumbuhan (*Growth Factors*) bFGF dan TGF- β 1 dengan

Metode *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA), Sumber sampel yang digunakan adalah homogenat jaringan kulit tikus.

Jaringan kulit tikus yang dipreservasi dari penelitian sebelumnya dikeluarkan dari dalam *freezer* -80° C, kemudian dibiarkan mencair di dalam *ice box*. Setelah mencair, jaringan kulit tikus ditimbang lalu dimasukkan ke dalam tabung 1,5 ml dan ditambahkan larutan PBS (1x) dengan perbandingan berat jaringan (g) : volume PBS (ml) = 1 : 9.

Jaringan kulit dalam PBS kemudian dihancurkan (dihomogenisasi) menggunakan *pestle* atau *homogenizer* dalam *ice box*. Homogenat jaringan kulit lalu disentrifugasi pada kecepatan 5000×g (2-8° C) selama 5 – 10 menit. Supernatan yang terbentuk pada lapisan atas kemudian digunakan sebagai sampel untuk pengukuran konsentrasi bFGF mengikuti prosedur Kit ELISA Rat bFGF/FGF2 (*Basic Fibroblast Growth Factor*) [Elabscience] dan pengukuran konsentrasi TGF- β 1 mengikuti prosedur Kit ELISA TGF- β 1 (*Transforming Growth Factor Beta 1*) [Elabscience].

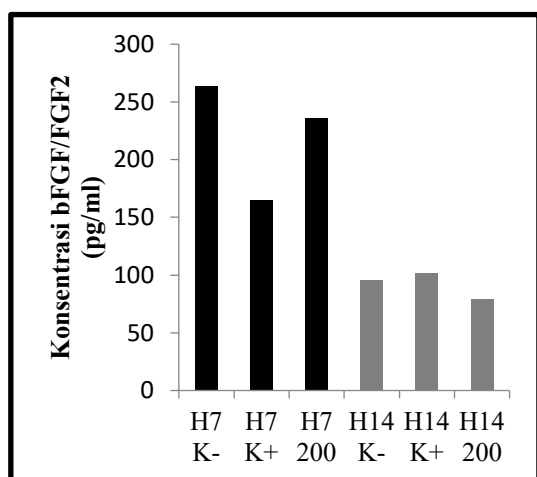
2.2 Metode Analisis Data

Analisis data dilakukan secara deskriptif kualitatif dengan membandingkan konsentrasi bFGF dan TGF- β 1 antara kelompok kontrol (tanpa ekstrak daun Binahong) dan kelompok perlakuan dengan ekstrak daun Binahong.

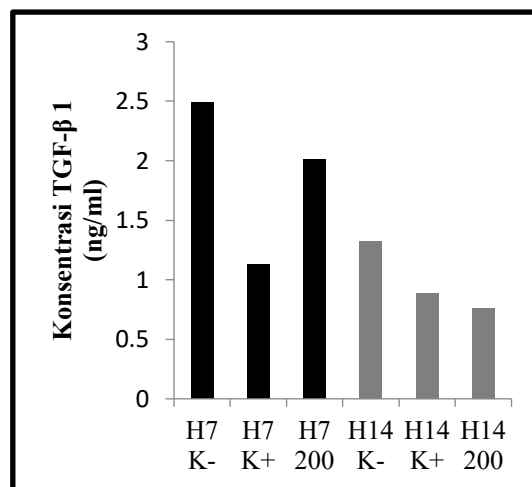
3. Hasil dan Pembahasan

Konsentrasi bFGF dan TGF- β 1 pada kelompok kontrol (tanpa ekstrak daun Binahong) dan kelompok perlakuan ekstrak daun Binahong di hari ke-7 dan ke-14 ditunjukkan pada Gambar 1 dan 2. Gambar 1 dan 2 menunjukkan konsentrasi bFGF dan TGF- β 1. Secara deskriptif menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan antara kelompok kontrol (tanpa ekstrak daun Binahong) dan kelompok dengan pemberian ekstrak daun Binahong. Konsentrasi bFGF dan TGF- β 1 pada hari ke-14 juga menunjukkan penurunan dibanding hari ke-7.

Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) merupakan suatu teknik *in vitro* untuk mendeteksi dan mengkuantifikasi substansi terlarut seperti peptida, protein, antibodi, dan hormon dalam suatu sampel biologis. Pada prinsipnya, ELISA merupakan interaksi spesifik antara antibodi-antigen, antigen atau makromolekul target akan diimobilisasi pada permukaan *microplate well* kemudian membentuk kompleks dengan antibodi yang sudah berikatan dengan *reporter enzyme*. *Reporter enzyme* selanjutnya akan berikatan dengan substrat spesifik sehingga menghasilkan warna yang dapat terukur pada panjang gelombang tertentu di mesin pembaca ELISA (ThermoFisher Scientific, 2020). Pada penelitian ini, *microplate* ELISA yang digunakan sudah dilapisi masing-masing oleh antibodi yang spesifik terhadap bFGF dan TGF- β 1.



Gambar 1. Konsentrasi bFGF pada kelompok kontrol K-, K+, dan kelompok perlakuan ekstrak daun Binahong (200 mg) di hari ke-7 dan ke-14.



Gambar 2. Konsentrasi TGF- β 1 pada kelompok kontrol K-, K+, dan kelompok perlakuan ekstrak daun Binahong (200 mg) di hari ke-7 dan ke-14.

Metode ELISA yang digunakan adalah *Sandwich* ELISA, yaitu *microplate well* dari Kit ELISA sudah dilapisi oleh *capture antibody* (spesifik terhadap bFGF dan atau TGF- β 1), kemudian diikuti antigen (target dalam sampel yang dianalisis, yaitu bFGF dan TGF- β 1) dan *detection antibody* yang sudah terkonjugasi sehingga akan membentuk kompleks seperti '*sandwich*', yaitu *capture antibody*-target-*detection antibody*.

Penghitungan konsentrasi bFGF dan TGF- β 1 didasarkan pada kurva standar yang diperoleh dari protein standar masing-masing Kit bFGF dan TGF- β 1. Setiap kali ELISA sampel dijalankan, harus disertai dengan ELISA protein standar yang sudah disediakan oleh Kit ELISA. Protein standar tersebut sudah diketahui konsentrasinya, sehingga dari hasil ELISA akan diperoleh nilai absorbansi masing-masing protein standar.

Nilai konsentrasi protein standar (x) terhadap absorbansinya (y) kemudian dapat menghasilkan kurva standar dengan persamaan tertentu ($y = ax + b$). Persamaan ini yang selanjutnya digunakan untuk menghitung konsentrasi dalam sampel ("x") dengan "y" adalah absorbansi sampel yang terukur dari mesin pembaca ELISA, sedangkan "a" dan "b" adalah nilai yang terdapat pada persamaan.

Hasil ELISA bFGF dalam penelitian ini menunjukkan konsentrasi bFGF hari ke-7

pada kelompok perlakuan ekstrak daun Binahong (H7 200) lebih tinggi dibanding kelompok kontrol K+ yaitu kelompok yang hanya diberi salep gentamicin, namun lebih rendah dibanding kelompok kontrol K- yang tidak diberi perlakuan apapun baik salep gentamicin maupun ekstrak daun Binahong.

Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya (Aspriyanto *et al.*, 2017; Rifasanto *et al.*, 2018; Apriasari *et al.*, 2019), dilaporkan bahwa konsentrasi *fibroblast growth factor* (FGF) meningkat karena adanya pengaruh senyawa saponin dan tanin yang terkandung dalam tanaman herbal. Daun Binahong diketahui sebagai salah satu tanaman herbal yang mengandung senyawa saponin dan tanin (Yuniarti dan Lukiswanto, 2017), maka diasumsikan bahwa kelompok perlakuan ekstrak daun Binahong dalam penelitian ini (200 mg) memiliki konsentrasi bFGF yang lebih tinggi dibanding kelompok kontrol tanpa perlakuan ekstrak daun Binahong (K- dan K+). Namun, tidak demikian dengan hasil ELISA bFGF yang diperoleh dalam penelitian ini, secara deskriptif terlihat bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan perlakuan ekstrak daun Binahong, baik di hari ke-7 maupun ke-14.

Jika melihat konsentrasi bFGF di hari ke-7 dan ke-14 yang tidak terlihat berbeda antara kelompok kontrol dan perlakuan ekstrak daun Binahong, maka tidak dengan konsentrasi bFGF antara hari ke-7 dan ke-14 yang menunjukkan perbedaan secara deskriptif, yaitu penurunan konsentrasi di hari ke-14, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan ekstrak daun Binahong. Hal ini sesuai dengan teori yang dikemukakan bahwa produksi FGF terjadi pada fase proliferasi (Chicharro-Alcántara *et al.*, 2018) yang berkisar dari akhir fase inflamasi (sekitar hari ke-5 dari awal luka terjadi) hingga hari ke-21 (Sjamsuhidajat *et al.*, 2012; Andreu *et al.*, 2015).

Pada studi pendahuluan yang telah dilakukan, hasil mikroskopis menunjukkan bahwa luka pada kelompok kontrol sudah hampir menutup dan sudah menutup sempurna pada kelompok perlakuan ekstrak

daun Binahong di hari ke-14. Hasil tersebut menjawab penelitian kali ini bahwa kemungkinan pada hari ke-14 sudah memasuki fase *remodelling*, dengan arti lain fase *remodelling* terjadi lebih cepat dibanding biasanya yang memasuki hari ke-21, sehingga dapat dilihat pada penelitian ini bahwa konsentrasi FGF di hari ke-14 sudah menurun dibanding hari ke-7 karena diasumsikan bahwa pada hari ke-14 tersebut sudah memasuki fase penyembuhan luka berikutnya (setelah fase proliferasi) dimana *growth factor* yang berperan sudah berbeda, konsentrasi FGF mulai berkurang dan digantikan dengan *growth factor* lain.

Serupa dengan hasil konsentrasi bFGF yang didapat dalam penelitian ini, bahwa konsentrasi TGF- β 1 hari ke-7 pada kelompok perlakuan ekstrak daun Binahong (H7 200) juga lebih tinggi dibanding kelompok kontrol K+ yaitu kelompok yang hanya diberi salep gentamicin, namun lebih rendah dibanding kelompok kontrol K- yang tidak diberi perlakuan apapun baik salep gentamicin maupun ekstrak daun Binahong. Demikian pula dengan konsentrasi TGF- β 1 pada hari ke-14, tidak ada perbedaan yang signifikan secara deskriptif di antara ketiga kelompok studi, K-; K+; dan 200.

Penurunan konsentrasi TGF- β 1 terjadi di hari ke-14 (dibanding hari ke-7). Hasil ini juga serupa dengan konsentrasi bFGF yang menurun di hari ke-14. *Transforming Growth Factor-Beta 1* (TGF- β 1) merupakan *growth factor* yang diproduksi pada awal fase penyembuhan luka, yaitu fase inflamasi (Chicharro-Alcántara *et al.*, 2018) sehingga konsentrasinya lebih tinggi di minggu pertama dari awal luka terjadi dan akan menurun seiring dengan pergantian fase penyembuhan luka (digantikan oleh produksi *growth factor* yang lain).

Walaupun tidak dapat diambil kesimpulan secara statistik dikarenakan jumlah sampel yang terbatas, namun adanya variasi konsentrasi bFGF dan TGF- β 1 antara kelompok kontrol tanpa ekstrak daun Binahong dan kelompok perlakuan dengan ekstrak daun Binahong, menunjukkan bahwa analisis ini dapat dilanjutkan secara kuantitatif

sehingga dapat dianalisis secara statistik dan diperoleh kesimpulan yang bermakna.

4. Kesimpulan dan Saran

Konsentrasi bFGF dan TGF- β 1 pada kelompok perlakuan ekstrak daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) tidak signifikan berbeda secara deskriptif dibanding dengan kelompok kontrol (tanpa ekstrak Daun Binahong).

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah jumlah sampel (*sample size*) sebaiknya ditingkatkan hingga 75-100% pada pengujian secara *in vivo* mengingat banyak faktor yang tidak selalu bisa dikendalikan dalam pemeliharaan hewan uji di laboratorium. Hasil pada penelitian ini dapat dijadikan acuan desain studi untuk penelitian selanjutnya dengan jumlah sampel yang lebih besar atau pun dengan menambahkan parameter pengujian secara *in vitro* untuk melihat langsung pengaruh ekstrak daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap produksi *growth factor* bFGF dan TGF- β 1.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Yayasan YARSI yang telah mendanai penelitian ini melalui Program Hibah Internal Universitas YARSI tahun 2020/2021.

Daftar Pustaka

- Agarwal PK, Singh A, Gaurav K, Goel S, Khanna HD, Goel RK. (2009). Evaluation of Wound Healing Activity of Extracts of Plantain Banana (*Musa sapientum* var. *paradisica*) in Rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, Vol. 47: 32-40.
- Andreu V, Mendoza G, Arruebo M, Irusta S. (2015). Smart Dressings Based on Nanostructured Fibers Containing Natural Origin Antimicrobial, Anti-Inflammatory, and Regenerative Compounds. *Materials*, (8): 5154-5193.
- Apriasari ML, Pramitha SR, Puspitasari D, Ernawati DS. (2019). Expression of Fibroblast Growth Factor- β and

Transforming Growth Factor- β in Mauli Banana Stem (*Musa acuminata*) Extract Gel-Treated Traumatic Ulcer. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 18(3): 527-531.

- Aspriyanto D, Nirwana I, Budi HS. (2017). FGF-2 Expression and The Amount of Fibroblast in The Incised Wounds of Rattus novergicus Rats Induced with Mauli Banana (*Musa acuminata*) Stem Extract. *Dental Journal*, 50(3): 121-126.
- Chicharro-Alcántara D, Rubio-Zaragoza M, Damiá-Gimenéz E, Carrillo-Poveda JM, Cuervo-Serrato B, Peláez-Gorrea P, et al. (2018). Platelet Rich Plasma: New Insights for Cutaneous Wound Healing Management. *Journal of Functional Biomaterials*, 9, 10; doi:10.3390/jfb9010010
- de Araújo R, Lôbo M, Trindade K, Silva DF, Pereira N. (2019). Fibroblast Growth Factors: A Controlling Mechanism of Skin Aging. *Skin Pharmacology and Physiology*, 32: 275-282.
- Kintoko, Desmayanti A. (2015). The Effectivity Of Ethanolic Extract Of Binahong Leaves (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) Gel In The Management Of Diabetic Wound Healing In Aloxan-Induced Rat Models. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*, Vol. 7(2), Pp. 52-58. Doi: 10.1371/Journal.Pone.0158765.2
- Rifasanto MI, Apriasari ML, Taufiqurrahman I. (2018). The Effect of Mauli Banana (*Musa acuminata*) Stem Extract Gel Application with 37.5% Concentration on Fibroblast Cell Count. (In Vivo Study on Wound Healing Process of Male Wistar Rat (*Rattus novergicus*) Buccal Mucosa). *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*, Vol. III No. 1 Maret 2018.
- Sjamsuhidajat R, Karmadihadja W, Prasetyono TOH, Rudiman R. (2012). *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Sjamsuhidajat-De Jong Ed. 3.

Jurnal Kesehatan

Author(s) : Anggi Puspa Nur Hidayati¹, Wira Alwysaputro², Afif Ramdisa², Restu Syamsul Hadi^{1,2}

Sukrama DM, Wihandani DM, Manuaba AP. (2017). Topical Binahong (*Anredera cordifolia*) Leaf Extracts Increases Interleukin-6 and VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) during Burn Wound Healing in Wistar Rats Infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Biology and Medicine*, (9): 1.

Sutrisno E, Sukandar E, Fidrianny I, Adnyana IK. (2018). Wound Healing In vivo and In vitro Study of Binahong Leaves (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) and Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Ethanolic Extract. *Pharmacology Clinical Pharmacy Research Group, School Of Pharmacy Of Bandung Institute*, Vol. 1, Pp. 111–116.

ThermoFisher Scientific. (2020). Overview of ELISA. Retrieved October 10 2020, from <https://www.thermofisher.com/id/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/overview-elisa.html>

Wijayanti K, Esti RHS. (2017). Effectiveness of Binahong Decoction Water (*Anredera cordifolia* (ten.) Steenins) for Perineal Wound Healing at Home Delivery Aesya Grabag, Magelang, Indonesia. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 5(5): 1970-1975.

Yuniarti WM, Lukiswanto BS. (2017). Effects of Herbal Ointment Containing the Leaf Extracts of Madeira Vine (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) for Burn Wound Healing Process on Albino Rats. *Veterinary World*, Vol. 10: 808-813.