

EFEK FRAKSI AIR EKSTRAK UMBI BIDARA UPAS (MERREMIA MAMMOSA (LOUR.) HAILER F.) TERHADAP KEPADATAN KOLAGEN PADA LUKA TIKUS DIABETES

Oleh :

Efi Srivita Sinambela

0101047703

Yosi Purba

1901021015

Universitas audi Indonesia

Jalan bunga N'cole raya kelurahan No.83 kemenagan Tani

Kec, Medan tuntungan, kota medan sumatera utara

Efisrivita02@gmail.com

Abstrak

Luka diabetik merupakan komplikasi yang sering menyertai diabetes mellitus. Diperkirakan sejumlah 25% pasien diabetes mengalami luka diabetik dan 85% di antaranya mengalami amputasi. Manajemen perawatan luka diabetik cukup sulit dan mahal, maka dibutuhkan alternatif pengobatan dari bahan alam seperti umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hailler f.). Bidara upas mengandung senyawa resin glikosida, alkaloid, tanin, dan flavonoid sebagai antiinflamasi, antioksidan, dan antibakteri yang dapat membantu penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian fraksi air ekstrak umbi bidara upas dalam penyembuhan luka berdasarkan kepadatan kolagen kulit. Jenis penelitian yang digunakan adalah true experimental dengan post test only randomized control group design menggunakan 24 ekor tikus wistar jantan yang telah diinduksi diabetes dengan streptozotocin. Luka insisi dibuat di punggung menggunakan metode Morton. Tikus dibagi 6 kelompok: kontrol negatif (akuades), kontrol positif (gentamicin), dan kelompok perlakuan fraksi umbi bidara upas T1 (12,5 mg), T2 (25 mg), T3 (50 mg) dan T4 (100 mg). Hasil penelitian menunjukkan kelompok perlakuan fraksi bidara upas menunjukkan perbedaan kepadatan kolagen yang signifikan terhadap kontrol negatif ($p < 0,001$). Kelompok T3 dan T4 menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,01$) terhadap kontrol positif, sedangkan kelompok T1 dan T2 tidak berbeda signifikan. Pemberian fraksi air ekstrak umbi bidara upas secara topikal efektif dalam mempercepat penyembuhan luka diabetik berdasarkan gambaran histopatologi kepadatan kolagen kulit pada tikus.

Effects Of Water Fractions Of Upas Tumber Extract (*Merremia Mammosa* (Lour.) Hailer F.) On Collagen Density In Diabetic Rat Wounds

Abstract

A diabetic wound is the most common complications found in diabetes mellitus. Around 25% of diabetic patients are estimated to have a diabetic wound, and 85% of them require amputation. The management of diabetic wound care is quite difficult and expensive, so an alternative treatment from natural ingredients such as tubers of bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hailler f.) is needed. Bidara upas contains glycosides resins, alkaloid, tannin and flavonoid as an antiinflammatory, antioxidant, and antibacterial agent. This study aimed to determine the effectiveness of bidara upas extract water fraction in wound healing toward collagen density. This study used 24 male Wistar rats induced diabetic by streptozotocin. The incisional wound on the back was made using the Morton method. The

samples were divided into 6 groups: negative control (aquadest), positive control (gentamicin), and treatment group of bidara upas fraction T1 (12,5 mg), T2 (25 mg), T3 (50 mg) and T4 (100 mg). The results showed that all treatment groups had a significant difference in collagen density compared to negative controls ($p < 0,001$) The T3 and T4 groups were significantly different ($p < 0,01$) to the positive controls, while T1 and T2 were not different. This research concludes that water fraction of bidara upas tuber extract accelerated diabetic wound healing based on histopathological analysis of rats skin collagen density.

PENDAHULUAN

Komplikasi penyakit diabetes melitus (DM) yang paling sering terjadi adalah luka diabetik. Sejumlah 25% pasien DM mengalami luka diabetik dan 85% di antaranya mengalami amputasi (Lefrancois dkk., 2017). Berdasarkan data WHO (2016), sekitar 1,5-2,5% anggaran tahunan kesehatan digunakan untuk penanganan medis terkait penyakit DM dan komplikasinya. Terapi luka diabetik saat ini membutuhkan penanganan yang komprehensif dan melibatkan multidisiplin ilmu. Intervensi farmakologis dilakukan dengan terapi antibiotik. Penggunaan antibiotik dapat menghambat progresivitas luka diabetik namun memiliki beberapa kelemahan yakni dapat menimbulkan iritasi kulit, diperlukan tes sensitivitas bakteri, dan penggunaan antibiotik terlalu lama dapat menyebabkan terjadinya resistensi. Antibiotik terbukti tidak efektif terhadap 21,05% pasien luka diabetik di sebuah rumah sakit di kota Padang dengan bakteri resisten terhadap semua jenis antibiotik (Prameswari, 2017). Sulitnya penanganan luka, tingginya risiko reamputasi dan beban ekonomi yang menyertai permasalahan luka diabetik memunculkan sebuah urgensi inovasi terapi farmakologis yang efisien dan efektif.

Indonesia memiliki kekayaan sumber daya alam yang melimpah, 266 tanaman obat dapat ditemukan di Taman Nasional Meru Betiri Jawa Timur. Bidara upas merupakan tanaman obat yang memiliki kandungan flavonoid yang paling tinggi diantara 6 tanaman obat lain yang diteliti oleh Ratnadewi (2020) yaitu sejumlah $449,46 \pm 4,30$ mg QE/g. Selain flavonoid, bagian umbi dari tanaman bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Haill. f.) diketahui mengandung senyawa lain yaitu resin glikosida, alkaloid, dan tanin. Resin glikosida dan flavonoid mempunyai fungsi sebagai antiinflamasi dengan menghambat siklus siklooksigenase dan lipooksigenase pada proses inflamasi (Sakinah dkk., 2018; Rathee dkk., 2009). Efek antioksidan yang dimiliki oleh flavonoid dalam umbi bidara upas bekerja melalui mekanisme peningkatan aktivasi enzim SOD (Superoxide Dismutase) dan glutathione transferase sehingga dapat menurunkan jumlah ROS (Reactive Oxygen Species) yang dapat merusak sel (Hidayat dkk., 2015). Growth factor yang dihasilkan oleh umbi bidara upas selanjutnya dapat menginduksi fibroblas untuk mensintesis kolagen sehingga berperan dalam penyembuhan luka (Prameswari, 2017). Di samping itu alkaloid, flavonoid, dan tanin dapat berfungsi sebagai antibakteri dengan menghambat replikasi sel bakteri (Hidayat dkk., 2015). Parameter penyembuhan luka dapat dilihat melalui pengamatan angiogenesis, makrofag, fibroblas, dan kolagen. Pemeriksaan kepadatan kolagen dipilih karena kolagen memiliki peran penting dalam penyembuhan luka yaitu berinteraksi dengan trombosit dan fibronektin, serta meningkatkan komponen seluler, faktor pertumbuhan, dan proliferasi epidermis. Kolagen diproduksi oleh sel fibroblas. Sel fibroblas terdiri dari banyak serabut yang dapat meningkat kepadatannya seiring dengan kesembuhan luka (Novriansyah, 2008). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh fraksi air ekstrak umbi bidara upas (*M. mammosa* (Lour.) Haill. f.) terhadap progresivitas penyembuhan luka diabetik berdasarkan gambaran histopatologi kepadatan kolagen kulit.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian true experimental dengan post test only randomized control group design. Penelitian ini dilaksanakan bulan Maret – September 2017 di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Alat dan Bahan Alat untuk ekstraksi dan fraksinasi yaitu blender, maserator, rotavapor, freeze dryer, timbangan gram kasar, timbangan analitik, pengaduk, corong buchner, beaker glass, dan centrifuge. Alat untuk pemeliharaan tikus yaitu kandang bak plastik, tempat minum, tempat makan, serta penutup kandang yang terbuat dari kawat dan kasa. Alat untuk pembuatan tikus diabetes yaitu spuit injeksi 1 cc, pengaduk, dan beaker glass. Alat untuk pembuatan luka eksisi tikus diabetik dan pengambilan jaringan yaitu alat-alat bedah (minor set), stempel luka 2 x 2 cm, dan wadah jaringan. Bahan yang digunakan adalah simplisia umbi bidara upas, etanol 70%, akuades, streptozotocin, buffer sitrat, dextrose 10%, xyla, ketamin, eter, dan formalin 10%. Bidara upas didapatkan dari Klaten, Jawa Tengah. Tanaman bidara upas diidentifikasi dengan mengacu pada Database Tanaman Tropis, Ken Fen.

Pembuatan Ekstrak Umbi Bidara Upas Pembuatan ekstrak etanol umbi bidara upas menggunakan teknik ultrasound assisted solvent extraction. Umbi bidara upas sebanyak 10 kg dikeringkan dengan cara diangin-anginkan atau menggunakan oven pada suhu 60°C. Kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak sehingga diperoleh serbuk simplisia. Simplisia bidara upas sebanyak 1 kg diekstraksi dengan ultrasonik menggunakan etanol 70% sebanyak 5 L (perbandingan 1:5) selama 1 jam dengan sesekali diaduk. Setelah 1 jam, filtrat hasil diambil dengan penyaringan menggunakan corong buchner. Residu diekstraksi ulang dengan menggunakan ultrasonik sebanyak satu kali dengan cara yang sama lalu disaring. Pemekatan filtrat dilakukan dengan menggunakan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak etanol. Ekstrak yang diperoleh kemudian dikentalkan dengan penguapan di atas water bath sehingga didapatkan ekstrak etanol umbi bidara upas kental. Pembuatan Fraksi Air Umbi Bidara Upas Sebanyak 120 g ekstrak kental etanol umbi bidara upas ditambah dengan 240 mL akuades, diaduk hingga homogen lalu dimasukkan ke dalam corong pisah. Pada campuran ekstrak dan air ini ditambahkan n-heksana 360 mL (perbandingan 1:3) dan dikocok kuat selama 2-5 menit dan didiamkan sampai lapisan n-heksana terpisah sempurna (lapisan n-heksana pada bagian atas dan lapisan air di bagian bawah).

Lapisan air dikeluarkan melalui kran bawah. Tahap ini diulang 2 kali. Pada lapisan air ditambahkan 360 mL etil asetat kemudian dimasukkan ke corong pisah dan dikocok 2-5 menit lalu didiamkan. Lapisan etil asetat berada di bagian atas, sedangkan lapisan air di bagian bawah dikeluarkan melalui kran bawah. Tahapan ini diulang 2 kali. Lapisan air dipekatkan dengan menggunakan freeze dryer lalu dipisahkan dari residu ekstrak etanol yang tidak larut air. Hasil freeze drying inilah yang dinamakan fraksi air ekstrak umbi bidara upas. Pembuatan Tikus Diabetes dan Luka Diabetik Hewan coba diinduksi streptozotocin (STZ) secara intraperitoneal dengan dosis 40 mg/kgBB dalam 0,05 M buffer sitrat. Pasca induksi STZ, sebanyak 50 mL dextrose 10% diberikan pada masing-masing hewan coba selama 24 jam. Hewan coba dikategorikan DM bila kadar gula darah acak tikus ≥ 200 mg/dL. Pemeriksaan kadar gula darah acak (GDA) hewan coba dilakukan setiap seminggu sekali selama penelitian. Hewan coba selanjutnya dibuat luka menggunakan metode Morton dan Malon yang telah dimodifikasi.

Tikus dibius dengan ketamin dosis 80 mg/kgBB dan xylazine 10 mL/kgBB secara intramuskular, kemudian diletakkan di atas papan bedah dengan posisi telungkup dan keempat kaki diikat. Rambut di sekitar punggung kiri tikus dicukur, kemudian dibersihkan dengan kapas yang dibasahi alkohol 70%. Stempel ukuran 2 x 2 cm diberikan agar luka yang

dihasilkan seragam. Kulit di-eksisi fullthickness dengan pinset dan digunting di daerah tersebut sampai bagian subkutan beserta jaringan ikat di bawahnya. Perlakuan dan Analisis Data Sampel yang digunakan yaitu 24 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan yang telah diinduksi diabetes dan diberi luka insisi 2x2 cm. Pemberian terapi pada hewan coba dilakukan dua hari sekali secara topikal. Hewan coba dibagi 6 kelompok yaitu kontrol negatif (C-) dengan akuades, kontrol positif (C+) dengan gentamicin topikal, kelompok perlakuan 1 (T1) dengan dosis pemberian fraksi air ekstrak umbi bidara upas topikal sebesar 12,5 mg, kelompok perlakuan 2 (T2) dengan dosis 25 mg, kelompok perlakuan 3 (T3) dengan dosis 50 mg dan kelompok perlakuan 4 (T4) dengan dosis 100 mg. Terminasi dilakukan pada hari ke-10 penyembuhan luka (fase proliferasi). Pengamatan luka dilakukan secara histopatologis di bawah mikroskop dengan perbesaran 400× dalam 5 lapang pandang untuk melihat kepadatan kolagen luka dan diolah dengan software ImageJ. Data persentase kepadatan kolagen dianalisis menggunakan SPSS. Uji statistik yang digunakan adalah One-way Anova untuk menguji rata-rata perbandingan data tiap kelompok, dilanjutkan dengan uji statistik Post-Hoc LSD untuk melihat perbedaan antar kelompok bermakna ($p < 0,05$).

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pembuatan model hewan coba diabetes dilakukan melalui injeksi intraperitoneal streptozotocin (STZ). STZ lebih dipilih dibanding bahan diabetogenik lain seperti aloksan karena memiliki struktur kimia yang lebih stabil, tingkat keberhasilan induksi diabetes lebih tinggi, jarang menyebabkan mortalitas, dan rentang dosis STZ dalam menyebabkan diabetes tidak sesempit aloksan sehingga lebih fleksibel dalam pemilihan dosis (Goud dkk., 2015).

Pada penelitian ini dosis STZ yang digunakan adalah 40 mg/kgBB ($< 0,05$ M buffer sitrat). Rata-rata kadar gula darah acak hewan coba sebelum diinduksi streptozotocin (STZ) pada minggu ke-0 adalah normal (< 200 mg/dL) dan keadaan ini dipertahankan sampai hewan coba determinasi yaitu pada minggu ke-3 pasca induksi diabetes. Rata-rata kadar GDA hewan coba pada minggu ke-1 yaitu 343,333 mg/dL, pada minggu ke-2 rata-ratanya menurun menjadi 321,708 mg/dL, dan pada minggu ke-3 rata-ratanya kembali meningkat yaitu pada angka 336,25 mg/dL. Seluruh hewan coba telah mengalami hiperglikemia berdasarkan pengukuran kadar GDA (Gula Darah Acak) pada hari ke-6 pasca induksi STZ dan keadaan hiperglikemi ini berhasil dipertahankan sampai terminasi yaitu 3 minggu pasca induksi STZ. Hal ini sesuai dengan pendapat Goud dkk. (2015) bahwa dosis efektif STZ dalam menginduksi diabetes yaitu 40-60 mg/kgBB. Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Wijaya dkk. (2017) menggunakan STZ dosis 50 mg/kgBB (22,5 mg/ml buffer sitrat), hiperglikemia ditemukan pada hari ke 5-12 setelah induksi. Pengamatan kepadatan kolagen dilakukan pada hari ke-10 penyembuhan luka, karena pada hari ke-10 telah masuk fase proliferasi, sedangkan pada hari ke-7 kadar fibroblas yang menghasilkan kolagen mengalami peningkatan. Proses pembentukan kolagen terjadi bersamaan dengan pembentukan pembuluh darah pada fase proliferasi. Pembentukan kolagen membutuhkan oksigen untuk mengubah prokolagen menjadi tropokolagen (Li & Wu, 2018). Perbedaan tekanan oksigen yang disebabkan oleh penutupan luka dapat berpengaruh dalam pembentukan kolagen. Pada fase trial sebelum penelitian ini dimulai, penggunaan penutup luka menimbulkan perlekatan sekret permukaan luka, dan timbul luka baru sehingga proses penyembuhan sebagian atau seluruhnya kembali ke fase sebelumnya.

Kelompok kontrol negatif yang tidak diberikan terapi apapun hanya diberi akuades secara topikal menunjukkan rata-rata persentase kepadatan kolagen yang paling rendah yaitu sebesar $15,26 \pm 4,88$. Berdasarkan analisis statistik, kelompok kontrol negatif mempunyai

perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok perlakuan ($p < 0,001$). Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Asdar (2016) bahwa kelompok kontrol yang diberi akuades mempunyai kepadatan kolagen yang lebih rendah dibandingkan kelompok yang diberi propolis dan mempunyai perbedaan yang bermakna pada pengamatan hari ke-7 dan 14. Pada kelompok kontrol negatif terjadi proses pembentukan kolagen yang lebih sedikit dibanding dengan kelompok lain karena terjadi gangguan proses penyembuhan luka. Gangguan penyembuhan luka terjadi akibat kondisi hiperglikemi, gangguan pembuluh darah, luka infeksi, dan neuropati sehingga membutuhkan waktu yang lebih lama untuk sembuh (Falanga, 2005). Akuades tidak memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri maupun mempercepat penyembuhan luka. Akuades hanya berfungsi untuk membersihkan luka dari benda asing yang menempel pada permukaan luka, sehingga fase inflamasi terjadi lebih lama dan menyebabkan fibroblas pada fase proliferasi tidak kunjung aktif dalam mensintesis kolagen (Hidayat dkk., 2015).

Kelompok kontrol positif yang diberikan terapi gentamicin 0,1% secara topikal memiliki rata-rata persentase kepadatan kolagen sebesar $37,89 \pm 4,7$. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif tidak memiliki perbedaan dengan kelompok T1 dan T2 ($p < 0,05$) namun memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,001$) dibanding dengan kelompok kontrol yang diberi akuades. Pada penelitian ini, gentamicin digunakan sebagai kontrol positif karena memiliki efek farmakologis sebagai antibakteri dan merupakan salah satu pilihan terapi dalam penanganan luka diabetik. Gentamicin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri khususnya penyebab infeksi kulit seperti *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp., dan *Pseudomonas* sp. (SojoDorado & Rodríguez-Baño, 2017). Berdasarkan analisis statistik dengan kelompok kontrol positif, kelompok T1 dan T2 tidak memiliki perbedaan yang signifikan dikarenakan dosis pemberian fraksi air ekstrak umbi bidara upas yang kecil yaitu 12,5 mg dan 25 mg. Perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol positif ditemukan pada kelompok perlakuan T3 dan T4 dengan dosis pemberian fraksi air ekstrak umbi bidara upas sebesar 50 mg dan 100 mg. Hal ini menunjukkan bahwa berdasarkan pengamatan kepadatan kolagen pada penelitian ini, pemberian dosis 50 mg dan 100 mg pada luka diabetik menunjukkan hasil terapi yang lebih baik dibanding dengan terapi standar menggunakan gentamicin.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Sakinah dkk. (2018) melalui pengamatan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dan Kurniasih (2014) dengan metode uji tabung dibuktikan bahwa fraksi air ekstrak umbi bidara upas positif mengandung flavonoid. Flavonoid memiliki efek antioksidan yang dapat mempercepat fase inflamasi dengan menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi oksidasi dengan meningkatkan aktivitas enzim SOD (Superoxide Dismutase) dan GST (Glutation S Transferase) (Hidayat dkk., 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Kitagawa dkk. (1996) dan (1997) menunjukkan bahwa terdapat 13 jenis senyawa resin glikosida yang dapat diidentifikasi dalam umbi bidara upas yaitu merremosida a, b, c, d, e, f, g, h1, h2, dan mammosida A, B, H1, dan H2. Dua senyawa ini memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi dengan menghambat jalur lipooksigenase dan siklooksinegase (Sakinah dkk., 2018; Marchianti dkk., 2018). Hal ini didukung oleh penelitian yang telah dilakukan oleh Kurniasih (2014) yang membuktikan bahwa ekstrak etanol umbi bidara upas memiliki efek antiinflamasi topikal pada kulit mencit yang diinduksi karagenin dan konsentrasi efektif (EC_{50}) ekstrak etanol umbi bidara upas sebagai agen antiinflamasi adalah 2,53%.

Efek farmakologis umbi bidara upas sebagai antiinflamasi, antibakteri, dan antioksidan dapat mempercepat waktu inflamasi sehingga fase proliferasi dapat segera berlangsung. Penelitian yang dilakukan oleh Mazni (2008) melalui pengamatan KLT

membuktikan bahwa umbi bidara upas mengandung alkaloid dan tanin/polifenol. Ekstrak etanol umbi bidara upas mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan KBM (Kadar Bunuh Minimum) sebesar 0,5% b/v dan terhadap *Staphylococcus aureus* dengan KBM sebesar 1% b/v. Berdasarkan literatur pustaka yang telah disebutkan, umbi bidara upas tidak hanya memiliki kemampuan sebagai antibakteri namun juga memiliki efek farmakologis sebagai antiinflamasi dan antioksidan.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah pembuatan hewan coba dengan luka diabetik kronis sulit untuk dilakukan sehingga membuat penelitian ini hanya dapat digunakan sebagai rujukan pada luka diabetik derajat 1A dan 1B yaitu luka superficial yang tidak mencapai tendon baik itu terdapat infeksi ataupun tidak. Kendala lainnya adalah gentamicin sebaiknya tidak digunakan sebagai terapi tunggal pada kelompok kontrol positif karena terapi antibiotik ini belum mewakili terapi pada pasien luka diabetik secara menyeluruh. Patofisiologi luka diabetik bukan hanya terjadi akibat infeksi melainkan karena kondisi hiperglikemi, neuropati, dan gangguan pembuluh darah yang dialami.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian disimpulkan bahwa pemberian fraksi air ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Haill. f.) secara topikal efektif dalam mempercepat penyembuhan luka diabetik berdasarkan gambaran histopatologi kepadatan kolagen kulit. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui bahan pembawa (vehicle) yang efektif untuk mengembangkan sediaan topikal fraksi air ekstrak umbi bidara upas. Pemilihan perlakuan sebagai kontrol positif perlu disesuaikan lebih lanjut dengan pedoman tata laksana terapi luka diabetik.

DAFTAR PUSTAKA

- Asdar, A. (2016). Pengaruh Propolis terhadap Kolagenisasi pada Proses Penyembuhan Luka Subkutan Punggung Mencit yang Diinduksi Bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Journal of Dentomaxillofacial Science*, 1(1): 11-19. Falanga, V. (2005).
- Wound Healing and its Impairment in the Diabetic foot. *The Lancet*, 366 (9498): 1736-1743.
- Goud, B.J., Dwarakanath, V dan Chikka, B.K. (2015). STZ-a Diabetogenic Agent in Animal Models. *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Research* 3(1): 253-269.
- Hidayat, F., Elfiah, U dan Sofiana, K. (2015). Perbandingan Jumlah Makrofag pada Luka Eksisi Full Thickness antara Pemberian Ekstrak Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour)) dengan NaCl pada Tikus Wistar Jantan. *Artikel Ilmiah Penelitian Mahasiswa*: 1-4.
- Kitagawa, I., Baek, N.I., Kawashima, K., Yokokawa, Y., Yoshikawa, M., Ohashi, K. dan Shibuya, H. (1996). Indonesian Medicinal Plants. XV. Chemical Structures of Five New Resin-glycosides, Merremosides a, b, c, d, and e, from the Tuber of *Merremia mammosa* (Convolvulaceae). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 44(9):1680-1692.
- Kitagawa, I., Ohashi, K., Baek, N.I., Sakagami, M., Yoshikawa, M. dan Shibuya, H. (1997). Indonesian Medicinal Plants. XIX. Chemical Structures of Four Additional Resin-glycosides, Mammosides A, B, H1, and H2, from the tuber of *Merremia mammosa* (Convolvulaceae). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 45(5):786-794.

- Kurniasih, T. (2014). Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* Hall.f) secara Topikal pada Mencit Betina Galur Swiss Terinduksi Karagenin. Skripsi. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma. Lefrancois, T., Mehta, K., Sullivan, V., Lin, S, dan Glazebrook, M. (2017). Evidence Based Review of Literature on Detriments to Healing of Diabetic Foot Ulcers. *Foot and Ankle Surgery*, 23(4): 215- 224. Li, P. dan Wu, G. (2018). Roles of Dietary Glycine, Proline, and Hydroxyproline in Collagen Synthesis and Animal Growth. *Amino Acids*, 50(1):29-38. Marchianti, A., Ulfa, E dan Sakinah, E. (2018). The Dose Dependence Analysis of the Water Fraction of *Merremia mammosa* (Lour.) Extract on Diabetic Wound Healing Enhancement. *Hiroshima Journal of Medical Science*, (67): 29-34. Mazni, R. (2008). Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* Chois) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Echerichia coli* serta BSLT. Skripsi. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta. Novriansyah, R. (2008). Perbedaan Kepadatan Kolagen Disekitar Luka Insisi Tikus Wistar yang Dibalut dengan Kasa Konvensional dan Penutup Oklusif Hidrokoloid Selama 2 dan 14 Hari. Tesis. Semarang: Universitas Diponegoro.