Pengaruh Ekstrak Daun Ungu (EDU) terhadap Jumlah Neutrofil Darah Tepi Pasca Prosedur Eksisi Mukosa Labial pada Tikus Wistar Jantan (Rattus norvegicus)

(The Effect of Purple Leaf Extract (EDU) on the Number of Peripheral Blood Neutrophil Cells After Labial Mucosal Excision Procedure in Male Wistar Rats (Rattus norvegicus)

Indhi Cinthiya Amanitha[1], Atik Kurniawati[2], Zainul Cholid[3]
[1]Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Indonesia
[2] Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Indonesia
[3] Departemen Bedah Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Indonesia

Abtrak

Luka akibat prosedur eksisi menyebabkan terjadinya proses inflamasi. Pada tahap inisiasi inflamasi, neutrofil berperan penting dalam fagositosis benda asing selama dua hari pertama pasca cedera. Meskipun neutrofil berperan dalam mencegah infeksi, namun persistensi neutrofil akan menimbulkan luka akut yang berkembang menjadi luka kronis. Hal inilah yang memicu penggunaan ekstrak daun ungu sebagai agen antiinflamasi. Mengetahui perubahan neutrofil pasca prosedur eksisi mukosa labial pada tikus Wistar (Rattus norvegicus) jantan yang diberi Ekstrak Daun Ungu (EDU). Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium. Pada penelitian ini digunakan lima kelompok yaitu kelompok normal, kelompok kontrol, kelompok uji pertama (diberi EDU 10%), kelompok uji kedua (diberi EDU 15%), dan kelompok uji ketiga (diberi EDU 20%) dengan masing-masing kelompok sebanyak 4 sampel. Pengambilan sampel darah dilakukan pada setiap tikus pada hari ke-1, ke-3, dan ke-7. Data hasil penelitian ini dilakukan dengan uji statistik parametrik Two Way Annova. Hasil analisis menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna antar konsentrasi kelompok perlakuan dan antar hari pengamatan (a > 0,05). Tidak terdapat penurunan bermakna jumlah neutrofil pada apusan darah tepi tikus Wistar jantan setelah pemberian EDU, pada konsentrasi 15% dan 10%. EDU efektif dalam menurunkan jumlah neutrofil pasca prosedur eksisi mukosa labial pada tikus Wistar jantan

Kata kunci: Eksisi, Ekstrak daun ungu, Neutrofil

Abstract

The wound resulting from the excision procedure causes an inflammatory process to occur. At the initiation stage of inflammation, neutrophils play an important role in the phagocytosis of foreign bodies during the first two days after injury. Although neutrophils play a role in preventing infection, the persistence of neutrophils will cause acute wounds that progress to chronic wounds. This is what triggers the use of purple leaf extract as an anti-inflammatory agent. Determine the changes in neutrophils after labial mucosal excision procedure in male Wistar rats (Rattus norvegicus) given Purple Leaf Extract (EDU). The research method used is an experimental laboratory. In this study, five groups were used, namely the normal group, the control group, the first test group (given EDU 10%), the second test group (given 15% EDU), and the third test group (given 20% EDU) with 4 samples each group. Blood samples were taken for each rat on days 1, 3 and 7. The data from this study were carried out by the Two Way Annova parametric statistical test. The analysis showed that there was no significant difference between groups and between days of observation (a> 0.05). There is no significant decrease in the number of neutrophils in the peripheral blood smear of male Wistar rats after EDU administration, in the concentrations of 15% and 10% respectively. EDU is effective in reducing the number of neutrophils after the labial mucosal excision procedure in male Wistar rats.

Keywords: *Excision, Neutrophil, Purple leaf extract*

Korespondensi (*Correspondence*): Atik Kurniawati, Departemen Biologi Oral, FKG Universitas Jember, Jl. Kalimantan No 37 Jember, Indonesia, 08165425924. Email: atik.fkg@unej.ac.id

Luka adalah terjadinya gangguan atau kerusakan sebagian jaringan tubuh yang dapat disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik atau gigitan hewan[1]. Berdasarkan jenisnya, luka diklasifikasikan menjadi luka terbuka (*open wound*) dan luka tertutup (*close wound*). Salah satu contoh luka terbuka yaitu luka akibat prosedur eksisi. Eksisi merupakan suatu prosedur bedah yang bertujuan untuk membuang suatu jaringan dengan cara memotong[2]. Pada bidang bedah mulut, prosedur eksisi kerap digunakan pada kasus operasi pengangkatan mukokel, ranula, *genial tubercles,* serta prosedur biopsi. Luka yang diakibatkan prosedur eksisi menyebabkan terjadinya proses inflamasi. Pada tahap inisiasi inflamasi, neutrofil memegang peranan penting dalam fagositosis benda asing selama dua hari pertama setelah terjadinya luka[3].

Neutrofil, juga dikenal sebagai sel polimorfonuklear (PMN), adalah sel darah putih yang paling banyak terdapat pada sirkulasi darah manusia dan berperan sebagai garis pertahanan pertama dalam sistem imun innate manusia. Pada keadaan homeostatik, neutrofil memasuki sirkulasi, bermigrasi ke jaringan, di mana mereka menyelesaikan fungsinya, dan akhirnya dieliminasi oleh makrofag dalam selang satu hari [4]. Sedangkan pada keadaan inflamasi neutrofil berperan dalam keadaan keradangan akut, yaitu pada 24 jam sampai 72 jam saat terjadinya keadaan patologis[5]. Meskipun neutrofil berperan dalam pencegahan infeksi, namun keberadaan neutrofil yang persisten akan menyebabkan luka akut yang berprogresi menjadi luka kronis. Sehingga, jika jumlah neutrofil tidak mengalami penurunan sampai 72 jam, maka luka membutuhkan waktu yang lama untuk melakukan penyembuhan[6].

Proses inflamasi merupakan suatu hal yang dibutuhkan pada proses penyembuhan luka. Namun, luka tersebut seringkali memasuki

kondisi inflamasi patologis yang disebabkan oleh neutrofil yang persisten sehingga dapat memproduksi sitokin pro-inflamasi seperti *Interleukin*-1b (IL-1b) dan *Tumor Necrosis Factor*-a (TNF-a) yang tidak hanya meningkatkan produksi MMP, namun juga menurunkan *Tissue Inhibitor of MMP* (TIMMP). Kondisi tersebut meningkatkan degradasi ECM, mengganggu migrasi sel, dan mengurangi proliferasi fibroblas serta sintesis kolagen, maka dari itu kondisi inflamasi harus dapat dikendalikan karena dalam proses penyembuhan luka dibutuhkan suatu keseimbangan antara proses sintesis dan degradasi jaringan, sehingga tidak terjadi kerusakan jaringan yang berlebih dan proses penyembuhan berlangsung lebih cepat[7].

Aktivitas inflamasi dapat dipengaruhi oleh obat-obatan, salah satunya adalah penggunaan *Non- Steroid Anti inflamation drug* (NSAID) maupun obat golongan steroid yang memiliki efek analgesik pada nyeri. NSAID merupakan salah satu obat yang sering digunakan dalam mengatasi inflamasi dengan cara menghambat enzim cyclooxygenase-1 dan 2 (COX-1 dan COX-2) sehingga menurunkan produksi prostaglandin dan prostasiklin yang merupakan mediator pro-inflamasi[8]. Sedangkan obat golongan steroid merupakan obat anti-inflamasi yang sangat kuat yang bekerja dengan cara menghambat enzim phospholipase A2 sehingga tidak terbentuk asam arakidonat dan prostaglandin yang merupakan sitokin pro-inflamasi. Namun pemakaian NSAID dan obat golongan steroid dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping yaitu memberi resiko toksisitas saluran cerna yang besar, dapat mengakibatkan gangguan fungsi ginjal dan perdarahan pasca bedah [9]. Fakta ini memicu peneliti untuk menemukan bahan alami dengan efek samping minimal yang diketahui memiliki efek anti-inflamasi.

Daun ungu *(Graptophyllum pictum (L) Griff)* merupakan salah satu tanaman dari tiga belas komoditi yang dikembangkan oleh DITJEN POM sebagai tanaman obat unggulan. Tanaman ini banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai obat ambeien/wasir, sembelit, peluruh kencing, pelancar haid, obat bisul, dan beberapa kondisi seperti anti-jamur, anti-inflamasi dan imuno modulasi. Selain itu, penelitan terdahulu menyebutkan bahwa ekstrak daun ungu dapat mempercepat penyembuhan luka dengan meningkatkan jumlah fibroblast dan pembuluh darah baru pada luka pencabutan gigi[10]. Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk menganalisis Pengaruh Ekstrak Daun Ungu (EDU) Terhadap Jumlah Neutofil Darah Tepi pada Tikus Pasca Prosedur Eksisi.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan ialah penelitian *eksperimental laboratoris* dengan rancangan *post test only control group design*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada bulan September 2023. Persetujuan etik dilakukan di Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dengan nomor sertifikat etik 969/UN25.8/KEPK/DL/2023.

Sampel pada penelitian ini adalah tikus wistar. Sampel berjumlah 20 yang dibagi dibagi menjadi 5 kelompok secara acak, yaitu kelompok normal (tanpa perlakuan apapun), kelompok kontrol (diberi aquades steril hari 1-7), kelompok uji I (diberi EDU 10%), kelompok uji II (diberi EDU 15%), kelompok uji III (diberi EDU 20%). Kriteria sampel pada penelitian ini adalah tikus wistar jantan dengan berat 100-200 gram, umur 2-3 bulan, sehat, dan tidak memiliki kelainan anatomis. Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak daun ungu *(Graptophyllum pictum (L) Griff)* dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%. Variabel terikat penelitian ini adalah jumlah sel neutrofil darah tepi pada hapusan darah pasca eksisi.

Pembuatan ekstrak daun ungu (EDU) dilakukan dengan metode maserasi, sehingga dihasilkan EDU kental dengan konsentrasi 100%. EDU kental selanjutnya akan dilakukan pengenceran menggunakan aquades steril hingga menjadi EDU dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20%. Setelah pembuatan EDU, dilanjutkan dengan perlakuan hewan coba dengan cara melakukan prosedur eksisi pada mukosa labial tikus pada kelompok kontrol, uji I, uji II, dan uji III. Selanjutnya dilakukan pengambilan sampel darah pada hari 1, 3, dan 7. Selanjutnya dilakukan tahap perhitungan jumlah neutrofil menggunakan mikroskop binokuler. Data yang diperoleh kemudian dilakukan uji beda menggunakan uji *Two-way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95% (a = 0,05).

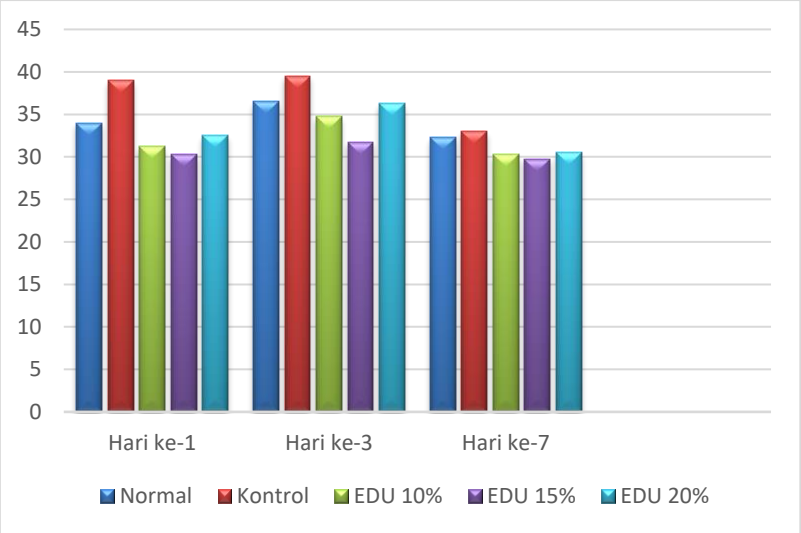
HASIL

Hasil penelitian rata- rata jumlah neutrofil ditampilkan pada Tabel 1 dibawah ini.

Tabel1. Jumlah rata- rata neutrophil

Hari ke-	Kelompok 1 (x± sd)	Kelompok 2 (x± sd)	Kelompok 3 (x± sd)	Kelompok 4 (x± sd)	Kelompok 5 (x± sd)
1	34,00 ± 11,402	39,00 ± 9,452	31,25 ± 7,544	30,25 ± 3,096	32,50 ± 3,512
3	36,50 ± 3,000	39,50 ± 13,916	34,75 ± 2,363	31,75 ± 6,652	36,25 ± 3,948
7	32,25 ± 7,441	33,00 ± 6,733	30,25 ± 9,811	29,75 ± 5,560	30,50 ± 5,802

Keterangan:
X ± sd : Rata-rata standard deviasi
Kelompok 1 : Kelompok normal
Kelompok 2 : Diberi aquades steril (kelompok kontrol)
Kelompok 3 : Diberi EDU 10%
Kelompok 4 : Diberi EDU 15%
Kelompok 5 : Diberi EDU 20%



Gambar 1. Visualisasi tabel 1 dalam bentuk diagram batang

Tabel 1 diatas menunjukkan bahwa jumlah rata- rata neutrophil tertinggi pada kelompok kontrol dan jumlah rata- rata neutrofil terendah pada kelompok uji II. Rata- rata jumlah neutrofil terjadi peningkatan pada hari ke 3 dan terjadi penurunan pada hari ke 7. Data yang diperoleh selanjutnya dilakukan Uji normalitas *Saphiro Wilk* dan menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dengan nilai signifikansi adalah (*a*)>0,05. Dilanjutkan dengan uji Levene didapatkan bahwa data tersebut homogen dengan nilai signifikansi (*a*)>0,05. Analisis uji Two Way Annova didapatkan nilai signifikansi (*a*)>0,05 artinya tidak terdapat perbedaan pada kelompok penelitian.

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan menganalisis peran neutrofil pada luka insisi sebagai sel penginisiasi inflamasi yang memegang peranan penting dalam fagositosis benda asing pada awal terjadinya luka. Meskipun demikian, neutrofil yang persisten akan menyebabkan inflamasi yang berkepanjangan sehingga luka membutuhkan waktu yang lama untuk melakukan penyembuhan. Berdasarkan jumlah nilai rata- rata neutrofil (Tabel 1) pada kelompok perlakuan lebih rendah daripada kelompok kontrol, namun masih dalam *range* kelompok normal pada hari ke 1,3, dan 7. Peggunaan kelompok normal pada penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui rata- rata jumlah neutrofil pada tikus yang tidak diberikan perlakuan. Jumlah neutrofil pada kelompok normal hanya dapat dibandingkan antar kelompok namun tidak dapat dibandingkan antar hari pengambilan sampel hapusan darah tepi, karena kelompok normal sifatnya hanya sebagai acuan rata- rata jumlah neutofil pada hari pengambilan sampel hapusan darah tepi. Acuan rata- rata jumlah neutrofil pada hari pengambilan sampel hapusan darah tepi digunakan untuk menentukan apakah terjadi peningkatan atau penurunan jumlah neutrofil pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan pada hari tersebut. Kelompok normal juga digunakan sebagai acuan rata- rata jumlah neutrofil setelah adanya jejas, yaitu untuk menilai apakah jumlah neutrofil kembali normal setelah adanya jejas atau tidak. Menurut Hadi (2019) [11] dan McCracken (2019) [12] menyebutkan bahwa pada saat terjadinya radang neutrofil memiliki masa hidup 24-72 jam pada sirkulasi, sehingga setelah 72 jam jumlah neutrofil akan mengalami penurunan dikarenakan perannya digantikan oleh makrofag.

Pengamatan pada hari 1, 3, dan 7 kelompok kontrol memiliki rata- rata jumlah neutrofil yang paling tinggi dibandingkan rata-rata kelompok perlakuan dan rata- rata kelompok normal. Hal ini disebabkan karena kelompok kontrol tidak dilakukan pemberian EDU sehingga jumlah neutrofil masih tinggi sehingga proses penyembuhan pada kelompok kontrol secara *self- healing* karena tidak diberikan rangsangan untuk menurunkan jumlah neutrofil.

Pengamatan pada kelompok normal, kontrol, serta perlakuan terdapat peningkatan jumlah neutrofil pada hari ke-3 dan mengalami penurunan pada hari ke-7. Hal ini sesuai dengan teori yang ada bahwa neutrofil merupakan sel radang akut yang digunakan oleh tubuh untuk melokalisir agen penyebab jejas dan memperbaiki kerusakan yang terjadi pada beberapa jam atau hari. Tahap keradangan akut dimulai saat terjadinya luka sampai hilangnya faktor yang memperlama keradangan yaitu berkisar antara 3- 5 hari. Hal ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Lawler *et al*[13] yang mengatakan bahwa golongan terbesar sel radang pada fase akut yaitu neutrofil. Pada hari ke-7 untuk kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terdapat penurunan jumlah neutrofil, dikarenakan inflamasi memasuki fase proliferasi sehingga sel radang mulai berkurang dan neutrofil sebagian besar digantikan oleh

makrofag yang berperan dalam pembersihan tepi luka dari sel- sel yang rusak serta pecahan fibrin.

Secara statistik dapat dilihat bahwa Ekstrak Daun Ungu (EDU) dengan konsentrasi 10% dapat menurunkan rata- rata jumlah neutrofil pada hari 1 sebesar 7,75%, pada hari ke-3 sebesar 4,75%, dan hari ke- 7 sebesar 2,75%. Pada EDU dengan konsentrasi 15% dapat menurunkan rata-rata jumlah neutrofil pada hari 1 sebesar 8,75%, pada hari ke-3 sebesar 7,75%, dan hari ke- 7 sebesar 3,25%. Jika dilihat dari penurunan rata-rata jumlah neutrofil antara konsentrasi 10% dan 15%, konsentrasi 15% mengalami penurunan jumlah neutrofil yang lebih banyak dibanding konsentrasi 10%. Hal ini terjadi karena EDU 15% memiliki kandungan bahan aktif yang lebih banyak dibanding 10%. Namun pada EDU dengan konsentrasi 20% mengalami penurunan jumlah neutrofil yang lebih sedikit/ tidak signifikan dibanding dengan konsentrasi 10% dan 15%, meskipun bahan aktif yang terkandung pada EDU 20% lebih banyak dibanding 10% dan 15%. Pada EDU dengan konsentrasi 20% dapat menurunkan rata- rata jumlah neutrofil pada hari 1 sebesar 1,50%, pada hari ke-3 sebesar 0,25%, dan hari ke- 7 sebesar 1,75%. Hal ini terjadi karena terdapat faktor- faktor yang mempengaruhi ke-efektifan obat, diantaranya yaitu; (a) kelarutan obat, (b) kemampuan obat berdifusi melintasi membran sel, (c) kadar obat, (d) sirkulasi darah pada tempat absorbsi, (e) luas permukaan kontak obat, (f) bentuk sediaan obat, dan (g) rute penggunaan obat [14]. Sehingga, penurunan rata- rata jumlah neutrofil pada EDU dengan konsentrasi 20% yang tidak signifikan dibanding EDU dengan konsentrasi 10% dan 15% kemungkinan terjadi karena EDU 20% mempunyai kepekatan cairan yang lebih tinggi dibanding konsentrasi 10% dan 15%, sehingga proses difusi melintasi membran sel tidak dapat dicapai secara maksimal dan absorbsi yang terjadi menjadi lebih lambat.

Secara statistik juga memperlihatkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok, waktu pemgamatan terhadap jumlah neutrofil. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh faktor lainnya dalam tubuh tikus selain perlukaan eksisi pada mukosa labial tikus. Pada pemeriksaan darah tepi secara sistemik memungkinkan faktor lain dalam tubuh tikus juga ikut berperan dalam proses radang tersebut, seperti status metabolik, status sirkulasi darah, terjadinya sepsis dan lainnya. Hal ini dikarenakan faktor sistemik tidak di kendalikan dalam penelitian ini. Selain itu, sistem pertahanan imun setiap tikus terhadap suatu jejas juga berbeda-beda yang dapat mempengaruhi hasil penelitian ini. Asumsi ini sesuai dengan pernyataan Robbins daan Kumar (2019) [15] bahwa adanya faktor sistemik maupun faktor lokal juga dapat mengubah tingkat keparahan respon peradangan serta kualitas penyembuhan, antara lain adanya suplai darah yang adekuat, status gizi dari *host,*ada/ tidak adanya penyakit sistemik dan perbaikan serta kadar sel darah putih yang adekuat.

Berdasarkan hasil pengamatan didapatkan adanya penurunan jumlah neutrofil pada kelompok yang diberi ekstrak daun ungu (EDU) konsentrasi 20%, 15%, dan 10% bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak daun ungu mempunyai efek anti-inflamasi yang ditandai adanya penurunan jumlah neutrofil karena ekstrak daun ungu memiliki kandungan flavonoid yang bersifat anti- inflamasi. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun ungu dapat mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah sehingga migrasi leukosit (neutrofil) ke daerah radang juga menurun.

Efek anti- inflamasi ekstrak daun ungu disebabkan oleh kandungan zat aktif flavonoid. Selain flavonoid dapat mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah, flavonoid juga dapat menghambat pelepasan asam arakidonat, sekresi enzim lisosom dari sel neutrofil dan sel endotelial serta menghambat fase eksudasi dari proses radang. Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat pelepasan asam arakidonat mempunyai mekanisme kerja yang hampir sama dengan aspirin yaitu melalui jalur lipoksigenase[14]. Lipooksiginase merupakan enzim yang menghambat metabolisme asam arakidonat menjadi hidroperoksid yang kemudian akan dimetabolisir menjadi leukotrien yang bersifat kemotaktik[16]. Mekanisme kerja flavonoid EDU dalam menghambat pelepasan asam arakidonat juga mempunyai mekanisme kerja yang hampir sama dengan aspirin yaitu melalui jalur siklooksigenase. Hal ini terjadi karena hampir semua obat anti- inflamasi non steroid (AINS) termasuk aspirin, bekerja dengan jalan menghambat enzim siklooksigenase yang merubah asam arakidonat menjadi suatu endoperoksid yang dapat mengurangi pembentukan prostaglandin, prostasiklin, dan tromboksan [14]. Dengan berkurangnya jumlah prostaglandin, prostasiklin, dan leukotrien, maka proses keradangan dapat berkurang. Dengan berkurangnya keradangan mengakibatkan jumlah leukosit dalam darah juga berkurang. Dalam hal ini jumlah sel neutrofil juga berkurang[17].

Menurut Tukiran (2023) [18], tanaman daun ungu mempunyai kandungan flavonoid, alkaloid dan tanin yang terdapat dalam daun ungu memiliki efek anti-inflamasi. Senyawa aktif flavonoid, alkaloid, serta tanin dalam daun ungu memiliki efek sinergis yang dapat menghambat aktivasi dari NF-kβ. Dengan terhambatnya aktifasi NF-kβ akan menghambat adhesi neutrofil pada endotel, sehingga tidak terjadi diapedesis dan kemotaksis neutrofil yang berakibat terjadinya penurunan jumlah neutrofil.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa EDU mempunyai efek anti-inflamasi dalam mengatasi keradangan yang disebabkan prosedur eksisi mukosa labial. Sebagai obat anti-inflamasi tradisional berbahan dasar tumbuhan, EDU 15% dan 10% mempunyai efek anti-inflamasi yang lebih efektif yang dilihat dari penurunan jumlah neutrofil dibandingkan dengan EDU konsentrasi 20%, sehingga berpotensi bisa

dijadikan alternatif obat anti- inflamasi berbahan dasar bahan alam.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan ekstrak daun ungu yang efektif menurunkan jumlah neutrofil pasca prosedur eksisi mukosa labial pada tikus wistar jantan secara berturut- turut yaitu konsentrasi 15% dan 10%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada staf laboratorium Biomedik dan Bioscience Fakultas Kedokteran Gigi Univesitas Jember, dan semua pihak yang tidak bisa kami sebutkan satu persatu yang telah berkontribusi memberikan bantuan dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ningtyas,G. (2019). *Uji Efektivitas Ekstrak Rimpang Kunyit (Curcuma Domestica Val) Dalam Mempercepat Proses Penyembuhan Luka Sayat Pada Tikus (Mus Musculus) Jantan* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta).

2. Quazi A, Patwekar M, Patwekar F, Mezni A, Ahmad I, Islam F. Evaluation of Wound Healing Activity (Excision Wound Model) of Ointment Prepared from Infusion Extract of Polyherbal Tea Bag Formulation in Diabetes-Induced Rats. Evid Based Complement Alternat Med. 2022 Jun 6;2022:1372199. doi: 10.1155/2022/1372199.

3. Moore, Undrell J. 2021.*Principles of oral and maxillofacial surgery*. John Wiley & Sons.

4. Rosales, C. 2019. Neutrophil: a cell with many roles in inflammation or several cell types?. *Frontiers in physiology*, 9:113.

5. Dovi, J. V., Szpaderska, A. M., & DiPietro, L. A. 2024. Neutrophil function in the healing wound: adding insult to injury?. *Thrombosis and haemostasis*, *92*(08), 275-280.

6. Primadina, N., Basori, A., & Perdanakusuma, D. S. 2019. Proses Penyembuhan Luka Ditinjau Dari Aspek Mekanisme Seluler Dan Molekuler. *Qanun Medika-Medical Journal Faculty of Medicine Muhammadiyah Surabaya*, *3*(1), 31-43.

7. Kurniawati, A., Saputra, D. R., Cholid, Z., & Putra, H. K. (2020). Cacao seed (Theobroma cacao L.) extract gel effect on the neutrophil number after tooth extraction. *Odonto: Dental Journal*, *7*(1), 60-67.

8. Imananta, F. P., & Sulistiyaningsih, S. .2019. Artikel Tinjauan: Penggunaan Nsaids (Non Steroidal Anti Inflamation Drugs) Menginduksi Peningkatan Tekanan Darah Pada Pasien Arthritis. *Farmaka*, *16*(1), 72-79

9. Fajriani, F. 2008. Pemberian Obat-Obatan Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) pada Anak. *Journal of Dentistry Indonesia*, *15*(3), 200-204

10. Kurniawati, A., Kristanti, Y. D., Rahmat, N. A., Rahayu, Y. C., Cholid, Z., & Sosiawan, A. (2024). The role of purple leaves extract (Graptophyllum Pictum (L.) Griff) on the number of fibroblasts and blood vessels in the socket after tooth extraction. *Dental Journal*, *57*(1), 56–61.

11. Hadi, Khusniah.2019. Efek Anti Inflamasi Susus Kedelai Lokal (*Glycine Max*) terhadap Jumalah Neutrofil PMN pada Tikus Wistar Jantan.

12. McCracken, J. M., & Allen, L. A. H. 2019. Regulation of human neutrophil apoptosis and lifespan in health and disease. *Journal of cell death*, *7*, JCD-S11038.

13. Lawler, W. Ali Ahmed. William J. Hume. 2022. "Essensial Pathology for Dental Student". Terjemahan Lilian Yuwono. *Buku Pintar Patologi untuk Kedokteran Gigi*. Jakarta: EGC.

14. Rachim, S. A., Kurniawati, A., dan Astuti, P. (2020). The Effect of Purple Leaf Extract (Graptophyllum pictum L. Griff) to The Amount of Fibroblast in Gingiva Rat Wistar induced by Porphyromonas gingivalis. DENTA, 14(2).

15. Robbins, S.L dan Kumar, V.2019. *Basic Pathology 4th edition*. Terjemahan Staf Pengajar Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Buku ajar patologi 1. Jakarta: EGC

16. Wilmana,2021. *Farmakologi dan Terapi.* Edisi 4. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

17. Astuti, Dewi. 2019. Jumlah Sel Polimorfonuklear (PMN) Neutrofil pada Tikus Jantan Yang Diinduksi Staphylococcus Aureus Setelah Pemeberian Perasan Daun Beluntas (Pluchea Indica [L] Less).

18. Tukiran, S., dan Hidayati, N. 2019. Skrining Fitokimia Pada Beberapa Ekstrak Dari Tumbuhan Bugenvil (Bougainvillea Glabra), Bunga Sepatu (Hibiscus Rosa-Sinensis L.), Dan Daun Ungu (Graptophylum Pictum Griff). In *Prosiding Seminar Nasional Kimia: Universitas Negeri Surabaya*.