

Formulasi Sediaan *Spray Gel* Anti Luka Mengandung Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) dan Uji Aktivitas Anti Luka terhadap Tikus Wistar

¹Nadia Nurmalasari, ²Embit Kartadarma, ³Amila Gadri

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

email: ¹nadyanurma@yahoo.com, ²embitkartadarma@yahoo.com, ³amilagadriapt@gmail.com

Abstract. Spray gel formulations and wound healing activities containing *Centella asiatica* leaves extract have been studied. The optimization of the prepared base formula contains carbopol 940 with concentrations of 12.5%, 6.25%, 18.75% and HPMC 2.78%, 4.17%, 1.39%. The best contains 6,25% carbopol 940 and 4.17% HPMC. It is concluded that a good spray gel formula containing 25% pegagan leaves extract has been proven to have wound healing activity.

Keywords: *Centella asiatica* leaves extract, spray gel, carbopol 940 and HPMC, wound healing.

Abstrak. Formulasi *spray gel* dan aktivitas penyembuhan luka yang mengandung ekstrak daun pegagan telah diteliti. Optimasi formula basis yang disusun mengandung karbopol 940 dengan konsentrasi 12,5%, 6,25%, 18,75% dan HPMC 2,78%, 4,17%, 1,39%. Hasil formulasi *spray gel* yang baik adalah formula yang mengandung karbopol 940 6,25% dan HPMC 4,17%. Kesimpulannya bahwa formula *spray gel* yang baik, ditambahkan ekstrak daun pegagan konsentrasi 25% dan telah diketahui memiliki aktivitas penyembuhan luka.

Kata Kunci: ekstrak daun pegagan, *spray gel*, karbopol 940 dan HPMC, penyembuhan luka.

A. Pendahuluan

Luka merupakan diskontinuitas dari suatu jaringan. Satu Angka kejadian luka memiliki prevalensi mencapai jutaan kasus per tahunnya. Hasil penyembuhan luka yang terganggu, cenderung memasuki kondisi inflamasi patologis karena proses penyembuhan luka yang tak terkoordinasi sehingga kebutuhan pengobatan dan perawatan luka menjadi salah satu hal yang penting (Barbul *et al*, 2010). Kulit berperan penting dalam kehidupan manusia, antara lain dengan mengatur keseimbangan air serta elektrolit, termoregulasi, dan berfungsi sebagai barrier terhadap lingkungan luar termasuk mikroorganisme.

Terapi herbal menjadi salah satu terapi alternatif yang tengah berkembang dan diminati oleh masyarakat. Permintaan akan terapi herbal berasal dari persepsi bahwa obat herbal lebih aman dan tidak berisiko daripada obat sintetik. Selain aman karena telah digunakan secara turun temurun, banyak penelitian yang telah membuktikan khasiat dari penggunaan herbal. Salah satu tanaman yang telah diteliti dan berkhasiat menyembuhkan luka diantaranya adalah *Centella asiatica* (L.) Urb. Berdasarkan penelitian Shalihatul, Soemantri, dan Wiji Utami (2013) menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan dapat mempercepat penyembuhan luka pada konsentrasi 25%.

Penyembuhan luka merupakan suatu proses fisiologis kompleks yang memerlukan beberapa tahapan, seperti fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi. Pegagan mengandung zat kimia diantaranya asiatikosida yang memiliki manfaat untuk penyembuhan luka. Selain itu, kandungan triterpenoid pada pegagan dapat meningkatkan aktivasi makrofag. Meningkatnya aktivasi makrofag akan meningkatkan kemampuan fagositosis dan sekresi interleukin, sehingga memacu sel B untuk menghasilkan antibodi terhadap antigen yang masuk ke dalam tubuh.

Salah satu bentuk pengembangan sediaan gel sebagai penutup luka adalah dalam bentuk

gel semprot (*spray gel*). Bentuk ini memiliki keuntungan dimana dengan teknik semprot memungkinkan sediaan yang akan dihantarkan ke luka tanpa melalui kontak dengan kapas swab, sehingga dapat meminimalkan limbah serta mengurangi kemungkinan kontaminasi atau infeksi. Jenis polimer yang dapat digunakan sebagai basis gel semprot adalah carboxyvinyl polimer (karbopol) dan hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) yang sudah banyak digunakan sebagai pembentuk gel (Jauregui K.M.G, 2009:450-456)

Berdasarkan uraian diatas maka permasalahan dalam penelitian ini adalah bagaimana memformulasikan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) yang diketahui memiliki aktivitas sebagai penyembuh luka dalam bentuk sediaan *spray gel*, dengan menggunakan *gelling agent* HPMC dan karbopol 940. Serta mengetahui aktivitas sediaan *spray gel* tersebut dalam penyembuhan luka. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan suatu formula *spray gel* dari daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) yang memenuhi persyaratan farmasetika dan berkhasiat terhadap penyembuhan luka, yang merupakan perkembangan dari sediaan yang telah ada sebelumnya. Data penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pengembangan bentuk sediaan *spray gel* serta meningkatkan pemanfaatan daun pegagan dalam pengobatan luka.

B. Landasan Teori

Pegagan merupakan herba tahunan yang tumbuh liar di seluruh Indonesia serta daerah-daerah beriklim tropis pada umumnya, dari daratan rendah hingga ketinggian 2500 m diatas permukaan laut. Tumbuh ditanah yang lembab dan subur seperti di tegalan, padang rumput, tepi parit, diantara batu-batu, di tepi jalan dan tembok (Materia Medika Indonesia, 1977).

Salah satu bagian tanaman pegagan yang berkhasiat obat adalah daun. Berdasarkan penelitian farmakologi yang dilakukan, efek farmakologi utama dari daun pegagan ini diketahui berasal dari kandungan glikosida triterpenoida yaitu asiaticosida yang berfungsi meningkatkan perbaikan dan penguatan sel-sel kulit, meningkatkan perkembangan pembuluh darah serta menjaganya dalam jaringan penghubung (connective tissue), mempengaruhi collagen (tahap pertama dalam perbaikan jaringan), misalnya dalam menghambat produksi jaringan bekas luka yang berlebihan (antikeloid), mempercepat penyembuhan luka, melebarkan pembuluh darah tepi (vasodilator perifer), anti inflamasi, dan anti agregasi. Kandungan kimia lainnya yang terdapat dalam pegagan diantaranya triterpenoid: madekasosida, asam asiatic, asam madekasat, asam indosentoat, bayogenin, asam euskapat, asam terminolat; flavonoid: kaempferol, kuersetin; saponin: sentelasapogenol A, sentelasaponin A, B, dan D; poliasetilen: kadiyenol, sentelin, asiatisin, dan sentelisin (Dirjen BPOM, 2010; dan Winarto, 2003).

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Pada penelitian ini dibuat sediaan *spray gel* yang mengandung zat aktif ekstrak kental daun pegagan 25% dengan menggunakan kombinasi polimer dan plasticizer. Plasticizer merupakan zat tambahan yang menyebabkan polimer memiliki sifat yang fleksibel atau elastis. Polimer yang digunakan dalam penelitian ini adalah karbopol 940 dan HPMC, serta propilenglikol sebagai plasticizer. Sediaan *spray gel* diharapkan memiliki aktivitas penyembuhan luka, maka perlu dilakukan uji aktivitas terhadap Tikus Wistar selama 21 hari.

Parameter standardisasi simplisia meliputi parameter spesifik dan non spesifik. Parameter spesifik terkait dengan identitas simplisia sedangkan parameter non spesifik terkait dengan kontaminasi pada simplisia. Untuk mengetahui identitas simplisia daun pegagan, dilakukan determinasi botani yang dilakukan di Herbarium Bandungense

SITH ITB. Berdasarkan hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel adalah daun pegagan dengan nama spesies *Centella asiatica* (L.) Urb atau sinonim *Hydrocotyle asiatica* L. Selanjutnya pada penetapan parameter non spesifik simplisia daun pegagan, dapat disimpulkan telah memenuhi ketentuan yang ditetapkan dalam Farmakope Herbal Indonesia secara umum. Penetapan kadar abu larut air menunjukkan kandungan logam fisiologis dalam simplisia daun pegagan sedangkan kadar abu tidak larut asam menunjukkan kandungan logam non fisiologis seperti residu benda asing. Penetapan kadar air dilakukan untuk memberikan batasan maksimal kandungan air. Tingginya kadar air simplisia dapat mempengaruhi kualitas dari simplisia seperti pertumbuhan mikroba serta memicu terjadinya reaksi enzimatik (Depkes RI, 2000:15). Hasil penetapan parameter standar non spesifik simplisia daun pegagan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penetapan Parameter Non Spesifik Simplisia Daun Pegagan

Karakteristik simplisia	Hasil penelitian (%)	FHI (%)
Kadar Abu Total	17,35	Tidak lebih dari 18,05%
Kadar Abu Tidak Larut Asam	4,55	Tidak lebih dari 4,9%
Kadar Abu Larut Air	12,80	-
Kadar Air	7	Tidak lebih dari 10%

(Farmakope Herbal Indonesia, 2009:113-114)

Proses Ekstraksi Simplisia dan Penapisan Fitokimia

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% karena berdasarkan penelitian Pramono dkk (2005) dan Zulqarnaen dkk (2016) menunjukkan bahwa etanol 70% paling banyak melarutkan asiatikosida. Hasil ekstraksi simplisia daun pegagan diperoleh rendemen sebesar 20,507%. Dalam literatur telah disebutkan bahwa rendemen daun pegagan tidak kurang dari 7,2% (FHI, 2009:114). Penapisan fitokimia merupakan tahap awal dalam mengidentifikasi kandungan kimia yang terdapat dalam ekstra. Dari hasil penapisan fitokimia ekstrak daun pegagan positif mengandung senyawa golongan flavonoid, saponin, tanin, fenol, triterpenoid/steroid, dan monoterpen/sesquiterpen. Hal ini sesuai dengan penelitian Sutrisno dkk (2014) dan tertera dalam Direktorat Obat Asli Indonesia BPOM RI (2010).

Optimasi dan Evaluasi Formula Basis

Tabel 2. Optimasi Formula Basis *Spray Gel*

Bahan	Jumlah %		
	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Gel Karbopol 2%	12,5	6,25	18,75
Gel HPMC 9%	2,78	4,17	1,39
Propilenglikol	15	15	15
Metil Paraben 0,02%	0,02	0,02	0,02
Propil Paraben 0,18%	0,18	0,18	0,18
Etanol 96% ad	100	100	100

Tahap optimasi formula basis dilakukan untuk mencari perbandingan karbopol dan HPMC yang terbaik Hasil uji organoleptis menunjukkan ketiga formula basis

menghasilkan gel yang bening dan berbau etanol.

Tabel 3. Hasil Karakteristik *Spray Gel*

Evaluasi	Formula		
	1	2	3
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen
Kerapuhan	Tidak rapuh	Tidak rapuh	Tidak rapuh
Kelengketan	Rendah	Rendah	Rendah
Waktu kering	7 menit	5 menit	7 menit

Pada **Tabel 3** menunjukkan perbedaan waktu kering dari ketiga optimasi formula tersebut. Penggunaan pelarut dengan jumlah yang banyak menyebabkan waktu kering lebih cepat karena etanol lebih mudah menguap dalam suhu ruang serta konsentrasi dari Karbopol 940 dan HPMC yang digunakan lebih kecil, hal ini juga berpengaruh pada tingkat kekentalan yang dihasilkan lebih rendah. Untuk pengujian daya sebar, hasil yang diperoleh bahwa formula 2 memiliki daya sebar yang lebih luas dari formula lainnya dengan menghasilkan daya sebar 3,27cm. Selanjutnya, pada pengamatan pembentukan lapisan film dilakukan dengan menggunakan mikroskop pembesaran 10x. Hasil yang terbaik diperoleh pada formula 2 dan 3 karena menghasilkan pembentukan lapisan film yang merata, kontinyu, dan elastis.

Pengujian viskositas bertujuan untuk menentukan nilai kekentalan suatu zat. Semakin tinggi nilai viskositasnya maka semakin tinggi tingkat kekentalan zat tersebut (Martin *et al.*, 1993). Dari ketiga formula tersebut yang dipilih adalah formula 2, karena daya kekentalannya lebih rendah seiring penggunaan konsentrasi karbopol 940 yang rendah juga. Tingkat viskositas yang dihasilkan oleh basis HPMC mempunyai viskositas yang lebih rendah daripada gel karbopol, sehingga lebih mudah dalam melepaskan zat aktif yang terkandung. Nilai viskositas yang diperoleh sangat berpengaruh terhadap daya semprot sediaan. Semakin tinggi viskositasnya maka sediaan cenderung sulit untuk disemprotkan.

Tabel 4. pH Optimasi Formula Basis *Spray Gel*

Evaluasi	Nilai	Formula 1	Formula 2	Formula 3
pH	Rata-rata	5,675	5,615	5,677
	± SD	0,005	0,002	0,002

Hasil pH dari ketiga optimasi basis yang diuji pada hari yang sama telah memenuhi kisaran pH kulit normal, yaitu antara 4,0-6,0 (Barel *et al.*, 2009). Maka formula yang dipilih yakni yang mendekati pH asam sebagaimana yang tertera pada **Tabel 4** karena pada suasana asam dapat membantu mempercepat penyembuhan luka yaitu dengan cara menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Jawetz, 1996).

Formulasi Sediaan *Spray gel*

Pada pembuatan formula sediaan akhir, basis *spray gel* yang terpilih adalah formula 2 yang memenuhi syarat farmasetika kemudian ditambahkan ekstrak kental daun pegagan 25%. HPMC dan karbopol 940 berfungsi sebagai *gelling agent* yang merupakan bahan pembentuk gel. Dalam pembentukan lapisan film yang elastis

digunakan propilenglikol sebagai plasticizer karena dapat bekerja dengan cara memberikan ruang kosong (*free volume*) pada polimer yang menyebabkan polimer memiliki ruang untuk bergerak sehingga molekul-molekul pada polimer dapat memiliki sifat yang lunak dan fleksibel. Metil paraben dan propil paraben digunakan sebagai pengawet karena pada sediaan ini ditujukan untuk penyembuhan luka terbuka sehingga sediaan harus dalam keadaan steril dan terhindar dari pertumbuhan mikroba. Hasil evaluasi pada sediaan akhir diantaranya sediaan dapat bercampur homogen dengan basis, menghasilkan lapisan film yang elastis, kontinyu dan merata. Pengujian daya sebar dan volume 1x semprot dilakukan secara triplo. Sediaan disemprotkan dengan jarak 5 cm berdasarkan penentuan luas lingkaran sehingga dapat diketahui luas penyemprotan yang dihasilkan selama 3x pengulangan dan hasil rata-rata yang didapat adalah 2,87 cm. Pengukuran ini bertujuan untuk mengetahui daya penyebaran *spray gel* pada kulit yang sedang diobati dan berkaitan dengan kenyamanan saat pemakaian. Sedangkan pada penentuan volume 1x semprot bertujuan untuk memperkirakan berapa kali penyemprotan agar mendapat volume yang seragam dan hasil rata-rata yang didapat adalah 0.07ml.

Uji stabilitas yang dilakukan meliputi organoleptis, homogenitas, pH, dan viskositas. Uji stabilitas dipercepat dilakukan dengan cara menyimpan sediaan pada suhu 40°C selama 28 hari dengan tujuan untuk melihat dan mengetahui ketahanan fisik sediaan selama masa penyimpanan dengan kondisi yang dilebihkan. Sediaan obat yang stabil adalah suatu sediaan yang masih berada dalam batas yang dapat diterima selama periode penyimpanan dan penggunaan, dimana sifat dan karakteristiknya sama dengan yang dimilikinya pada saat dibuat. Dapat disimpulkan bahwa sediaan *spray gel* stabil pada uji stabilitas dipercepat dengan hasil pengamatan dapat dilihat pada **Tabel 5 dan 6**.

Tabel 5. Stabilitas Organoleptis dan Homogenitas Formula *Spray Gel*

Hari ke-	F2 Suhu 25°C			F2 Suhu 40°C		
	Warna	Bau	Homogenitas	Warna	Bau	Homogenitas
0	+++	++	-	+++	++	-
7	+++	++	-	+++	++	-
14	+++	++	-	+++	++	+
21	+++	++	+	+++	+	++
28	+++	++	+	+++	+	++

Keterangan

Warna : (+) hampir hijau pekat; (++) cukup hijau pekat; (+++) sangat hijau pekat

Bau : (+) hampir bau etanol; (++) cukup bau etanol; (+++) sangat bau etanol

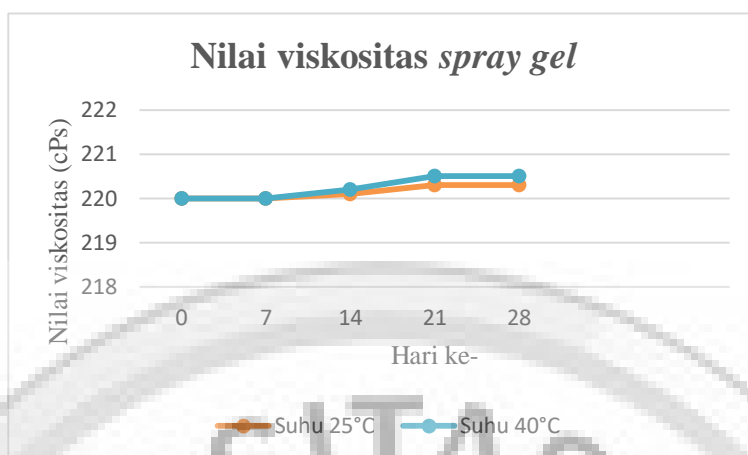
Homogenitas : (-) homogen (+) sedikit ada endapan; (++) cukup ada endapan; (+++) sangat ada endapan

Tabel 6. Stabilitas pH Formula *Spray Gel*

Hari ke-	F2 Suhu 25°C	F2 Suhu 40°C
0	5,676 ± 0,002	5,673 ± 0,04
7	5,755 ± 0,049	5,785 ± 0,001
14	5,822 ± 0,003	5,824 ± 0,001
21	5,802 ± 0,013	5,816 ± 0,001
28	5,851 ± 0,009	5,873 ± 0,003

Selama penyimpanan dapat terjadi peningkatan viskositas karena gel memiliki sifat jika dibiarkan tanpa gangguan seperti pengadukan maka viskositasnya akan

meningkat.



Gambar 1. Nilai Viskositas Spray Gel

Dapat dilihat pada grafik diatas bahwa nilai viskositas pada suhu 25°C dan suhu 40°C mengalami kenaikan dari hari ke-7 sampai ke-28. Hasil yang diperoleh dari stabilitas kekentalan selama penyimpanan yaitu stabil karena tingkat viskositas yang dihasilkan antara suhu 25°C dan suhu 40°C hampir sama. Pengujian selanjutnya adalah uji sterilitas. Salah satu syarat dalam pembuatan sediaan yang diaplikasikan untuk luka terbuka yaitu steril (bebas dari mikroorganisme) karena sediaan diaplikasikan pada jaringan tubuh yang rusak sehingga tidak ada sistem perlindungan pada kulit dan berbahaya jika terjadi kontaminasi mikroba. Media yang digunakan yaitu tioglikolat cair dengan suhu inkubasi 30°C yang berfungsi untuk menumbuhkan mikroba. Hasil yang diperoleh bahwa formula sediaan mengalami kekeruhan pada hari terakhir masa inkubasi. Hal ini dikarenakan ekstrak daun pegagan yang digunakan dalam formula sediaan, belum dalam kondisi steril meskipun telah dilakukan pemanasan diatas *waterbath* yang bertujuan untuk meminimalisir tumbuhnya mikroorganisme.

Uji Aktivitas Sediaan Spray Gel pada Luka Tikus

Dalam proses penyembuhan luka dibutuhkan beberapa proses untuk menggantikan jaringan yang telah rusak. Proses fisiologis penyembuhan luka dapat dibagi kedalam 3 tahap yaitu respon inflamasi, fase poliferatif, dan remodelling (Kozier, 1995). Senyawa daun pegagan seperti saponin dapat meningkatkan kandungan kolagen, triterpenoid dapat meningkatkan aktivitas makrofag, dan tanin sebagai antiseptik.

Saat terjadinya luka, fase awal penyembuhan akan terjadinya inflamasi sampai hari ke-4. Pembuluh darah yang terputus pada luka menyebabkan pendarahan dan tubuh akan berusaha menghentikannya dengan vasokonstriksi dan reaksi hemostasis. Ketika luka mengalami bengkak, maka makrofag mulai memasuki bekuan darah dan mulai menghancurkan sel yang rusak.

Memasuki fase poliferatif, dimulai dengan pertumbuhan jaringan granulasi ke arah dalam pada daerah yang sebelumnya ditempati oleh bekuan-bekuan darah. Dengan demikian setelah beberapa hari luka tersebut dijabatani oleh jaringan granulasi yang disiapkan untuk matang menjadi jaringan parut. Sementara proses ini terjadi, epitel permukaan dibagian tepi mulai melakukan regenerasi, dan dalam waktu beberapa hari lapisan epitel yang tipis bermigrasi diatas permukaan luka. Ketika jaringan parut dibawahnya menjadi matang, maka epitel juga akan menebal dan matang sehingga menyerupai kulit didekatnya (Price sylvia *et al.*, 2003). Parameter yang diamati pada

pengujian ini adalah lama waktu kering, terbentuknya keropeng, dan diameter luka.

Tabel 7. Nilai Rata-Rata Lama Waktu Kering Luka Tikus

Perlakuan	Rata-rata Lama Kering Luka (jam) \pm SD
Kontrol	48 \pm 0
Salep Povidon iodine 10%	23,86 \pm 0,05
Sediaan <i>Spray gel</i>	17,36 \pm 0,10
Basis <i>Spray gel</i>	18,26 \pm 0,12

Dari data diatas dapat dilihat bahwa pada sediaan uji mengalami waktu kering lebih cepat dari sediaan pembanding, dikarenakan sediaan uji mengandung saponin yang berfungsi sebagai antiseptik (pembersih pada luka).

Tabel 8. Nilai Rata-Rata Lama Terbentuknya Keropeng

Perlakuan	Rata-rata Lama Terbentuknya Keropeng (jam) \pm SD
Kontrol	233,3 \pm 0,08
Salep Povidon iodine 10%	96,5 \pm 0,05
Sediaan <i>Spray gel</i>	90,6 \pm 0,09
Basis <i>Spray gel</i>	144,2 \pm 0,13

Keropeng merupakan kerak kering berwarna hitam yang terbentuk pada permukaan luka. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keropeng lebih cepat terbentuk pada sediaan *spray gel* ekstrak daun pegagan. Adanya aktivitas penyembuhan luka ditandai dengan penurunan diameter. Berdasarkan analisis Tukey HSD hari ke-20, terdapat perbedaan bermakna antara kelompok uji dengan kelompok pembanding, basis, dan kontrol negatif dengan taraf signifikan (p -value $< 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa luka telah menutup sempurna pada kelompok uji.

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil optimasi formula basis, maka dipilih formula basis yang mengandung gel karbopol 6,25% dan gel HPMC 4,17% dan ditambahkan ekstrak kental daun pegagan sebanyak 25% sebagai formula sediaan akhir. Hasil pengujian telah memenuhi persyaratan farmasetika seperti pembentukan lapisan film yang kontinu, elastis, waktu kering 5 menit, dan tidak lengket serta pola semprot yang terbentuk dapat tersebar dengan homogen dengan diameter rata-rata 2.87cm. Sediaan *spray gel* ekstrak kental daun pegagan memberikan efek penyembuhan luka berdasarkan parameter waktu kering, pembentukan keropeng, dan diameter luka.

Daftar Pustaka

- Amaliya, Sholihatul., Bambang Somantri., dan Yulian Wiji Utami. (2013). Efek Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) dalam mempercepat penyembuhan luka terkontaminasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. 1(1).
- Barbul, A and Efron, D. (2010). *Wound Healing in Schwartz Principle of Surgery*, 9th ed. New York: Mc Graw Hill.
- Barel, A.O., Paye, M. and Maibach, H.I. (2009). *Handbook of Cosmetic Science and Technology*, 3rd ed. New York: Informa Healthcare USA.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1977). *Materia Medika Indonesia*, Jilid 1. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Edisi I. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Direktorat Obat Asli Indonesia. (2010). *Pegagan (Centella asiatica (L.) Urb)*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- E. Sutrisno, dkk. (2014). Kajian Aktivitas Penyembuhan Luka dan Antibakteri Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Serta Kombinasinya Terhadap Bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* Dari Pasien Luka Kaki Diabetes. 16(2).
- Jawetz, E. *et al.* (1996). *Mikrobiologi Klinik*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kozier. (1995). *Fundamental of Nursing*, 5th ed. California: Addison Wisley.
- Martin, A. (1993). *Physical Pharmacy*, 4th ed, Lea & Febiger, Philadelphia.
- Menteri Kesehatan RI. (2009). *Farmakope Herbal Indonesia*, Edisi ke-1. Jakarta: MenKes RI.
- Price, Sylvia Anderson, Wilson Lorraine Mc Carty. (2003). *Patofisiologi Proses Penyakit*, Edisi 4. Alih bahasa Peter Anugrah. Jakarta: EGC Kedokteran.
- S, Pramono dan Ajiastuti D. (2005). Standardisasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) berdasarkan kadar asiatikosida secara KLT-densitometri. *Majalah Farmasi Indonesia*, 15(3). Yogyakarta: UGM.
- W. P, Winarto. dan Maria, Surbakti. (2003). *Khasiat dan Manfaat Pegagan sebagai Tanaman Penambah Daya Ingat*, Agromedia.
- Zulkarnaen, Alifia P., Oktavia E. (2016). Penetapan Kadar Ekstrak Etanol 60% Pegagan (*Centella asiatica*) menggunakan Metode LC-MS. 2(2).