

UJI IRITASI GEL LENDIR BEKICOT (*Achatina fulica*) SECARA HISTOPATOLOGI

IRITATION TEST OF SNAIL MUCIN GEL (*Achatina fulica*) in HISTOPATHOLOGY

¹Shofiatul Fajriyah, ¹Fenita Shoviantari*, ¹Binti Nur Kayati, ²Shafia Khairani, ¹Lia Agustina

¹Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri

²Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran Bandung

Info Artikel

Sejarah Artikel :

Submitted: 3 Juli 2020

Accepted: 30

Desember 2020

Publish Online: 30

Desember 2020

Kata Kunci:

Kata kunci tikus, hematoxylin, eosin, formulasi, gel

Keywords:

Keywords: rat, haematoxylin, eosin, formulation, gel

Abstrak

Latar Belakang: Lendir bekicot (*Achatina fulica*) mengandung glikokonjugat kompleks yaitu glikosaminoglikan dan proteoglikan yang memiliki banyak fungsi diantaranya dapat menyembuhkan luka. Salah satu syarat sediaan topikal yang baik adalah tidak mengiritasi kulit. Sediaan topikal yang mengiritasi kulit justru akan memperparah kondisi pada kulit. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui uji mutu fisik dan efek iritasi dalam sediaan gel dari perbedaan konsentrasi lendir bekicot. **Metode:** Lendir bekicot diformulasikan dalam bentuk sediaan gel menggunakan *gelling agent* karbopol 940 dengan perbedaan konsentrasi dari lendir bekicot 10%, 15%, dan 20%. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak adanya pengaruh mutu fisik sediaan gel dengan perbedaan konsentrasi lendir bekicot. Hasil uji iritasi secara mikroskopis dari skor indeks pada preparat histologi kulit tikus jantan yang diwarnai dengan Hematoxylin eosin menghasilkan bahwa sediaan gel pada formula 1 dan 2 sedikit mengiritasi serta pada formulasi 3 menghasilkan sediaan gel dengan iritasi sedang. **Simpulan:** dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa perbedaan konsentrasi lendir bekicot dengan rentang 10 – 20% tidak mempengaruhi hasil uji mutu fisik dan penggunaan lendir bekicot sampai dengan kadar 15% aman digunakan.

Abstract

Background: Snail mucus (*Achatina fulica*) contains complex glycoconjugate namely glycosaminoglycans and proteoglycans which have many functions including healing wounds. One of the conditions for a good topical preparation is not to irritate the skin. Topical preparations that irritate the skin will only aggravate the condition on the skin. **Objective:** This study aims to determine the test of physical quality and irritation effect in gel preparations from different concentrations of snail slime. **Method:** Snail slime was formulated in gel form using a carbopol 940 gelling agent with different concentrations of snail slime 10%, 15%, and 20%. **Results:** The results showed that there was no effect of the physical quality of the gel preparations with the difference in snail mucus concentration. Microscopic irritation test results from index scores on the histological preparations of male rat skin stained with Hematoxylin eosin produced that the gel preparations in formulas 1 and 2 were slightly irritating and that in formulation 3 produced gel preparations with moderate irritation. **Conclusion:** From the results of the study it can be concluded that the difference in the concentration of snail slime with a range of 10 - 20% does not affect the results of physical quality tests and the use of snail slime up to 15% is safe to use.

PENDAHULUAN

Luka adalah rusak atau hilangnya sebagian jaringan tubuh. Keadaan ini dapat disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik atau gigitan hewan. Penyembuhan luka adalah proses dinamis yang meliputi unsur-unsur tubuh, pembuluh darah, sel epitel dan fibroblas (Sabiston, 2011). Penyembuhan luka seringkali dilakukan pemberian obat-obatan untuk mempercepat proses penyembuhan. Obat-obatan untuk mempertahankan dan memulihkan kesehatan, khususnya yang berhubungan dengan penyembuhan luka, saat ini dirasakan relatif mahal. Selain itu, dengan adanya resistensi antibiotika pada bakteri dan efek samping yang berat pada beberapa obat-obatan sintesis menjadi alasan tersendiri untuk mengalihkan perhatian pada terapi alternatif.

Penyembuhan luka dengan bahan alami salah satunya dengan menggunakan lendir bekicot (*Achatina fulica*) memiliki kandungan glikokonjugat kompleks yang terdiri dari glikosaminoglikon dan proteoglikon. Berdasarkan beberapa penelitian penggunaan lendir bekicot untuk menyembuhkan luka dapat dipermudah dengan membuat dalam bentuk sediaan seperti gel. Gel mempunyai sifat yang menyejukkan, melembabkan, mudah penggunaannya, mudah berpenetrasi pada kulit sehingga memberikan efek penyembuhan. Penelitian yang dilakukan oleh Purnasari (2012) menyimpulkan bahwa Lendir bekicot (*Achatina fulica*) memiliki pengaruh yang bermakna terhadap jumlah fibroblas pada penyembuhan luka sayat Rata-rata jumlah fibroblas penyembuhan luka sayat pada mencit dengan menggunakan lendir bekicot adalah 217,4 sedangkan untuk kelompok kontrol positif yang menggunakan *povidone iodine* adalah 126,3 dan sebagai kontrol negatif adalah 93,85. Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan lendir bekicot mempengaruhi peningkatan fibroblas sebagai matriks ekstraseluler yang akan mempercepat penyembuhan luka.

Basis gel yang digunakan dalam penelitian ini adalah karbopol 940. Karbopol 940 merupakan kelompok polimer asam akrilat. Pemeriananya serbuk putih, higroskopis, bersifat asam dan mempunyai bau khas. Karbopol 940 mudah larut dalam air dan alkohol, menunjukkan viskositas yang tinggi pada konsentrasi kecil (Afidah, 2008). Karbopol 940 sering dijadikan pilihan utama untuk formulasi sediaan topikal seperti gel karena karbopol 940 mudah terdispersi dalam air dan dalam konsentrasi yang kecil 0.02-2 % serta dapat memberikan penampilan yang cukup baik pada sediaan gel.

Pada sediaan gel penyembuhan luka tidak boleh mengiritasi kulit. Iritasi merupakan fenomena inflamasi pada kulit yang disebabkan oleh senyawa asing. Menurut penelitian Jones SG (2004) adanya iritan pada luka akan memperlama pengeluaran

proinflammatory cytokines sebagai akibat fase inflamasi akan diperpanjang sehingga meningkatkan level *matrix metalloproteases* (MMPs). Berdasarkan pemaparan latar belakang penelitian ini maka akan dilakukan formulasi gel lendir bekicot (*Achatina fulica*) dengan *gelling agent* karbopol 940 dan dilakukan uji iritasi secara *in vivo*.

METODE PENELITIAN

Pada penelitian ini metode rancangan yang akan digunakan adalah metode eksperimental. Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri Jawa Timur Indonesia. Waktu penelitian dimulai bulan November 2019 sampai Mei 2020.

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, pH meter, viskometer, mortir dan stemper, alat uji daya lekat, alat uji daya sebar dan alat-alat gelas laboratorium. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah lendir bekicot (*Achatina fulica*), karbopol 940, gliserin, *methyl paraben*, *propyl paraben*, TEA dan aquadest.

B. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) dengan kriteria bobot 200 – 300 gram, sehat, tidak cacat, dan memiliki kulit yang sehat. Jumlah hewan yang digunakan dihitung dengan menggunakan rumus Frederer dan didapatkan hasil masing – masing 6 ekor dalam 4 kelompok perlakuan.

C. Formulasi Gel Lendir Bekicot (*Achatina fulica*)

Tabel 1. Formula Gel Lendir Bekicot (*Achatina fulica*)

Bahan	Fungsi	Formula (%b/b)		
		1	2	3
Lendir Bekicot	Bahan aktif	10	15	20
Karbopol 940	Gelling agent	1,5	1,5	1,5
TEA	Alkalizing agent	1,5	1,5	1,5
Gliserin	Humektan	20	20	20
Metil paraben	Pengawet	0,3	0,3	0,3
Propil paraben	Pengawet	0,6	0,6	0,6
Aquadest	Pembawa	Ad 100	Ad 100	Ad 100

D. Pengambilan Lendir Bekicot

Bekicot (*Achatina fulica*) diperoleh dari perkebunan di wilayah Kabupaten Nganjuk Kecamatan Sawahan. Lendir bekicot dikumpulkan dengan memberikan rangsang (menggunakan batang pengaduk tumpul yang telah disterilkan) pada tubuh bagian bawah bekicot. Untuk memisahkan lendir dengan pengotornya, dilakukan

sentrifugasi pada 3500 rpm selama 15 menit. Mucin ditampung dalam wadah tertutup rapat dan disimpan pada suhu kurang dari 15°C.

E. Pengujian Protein Secara Kualitatif

Pengujian ini menggunakan metode uji ninhidrin. Pengujian dilakukan dengan cara dibuat larutan sampel 2% dalam aquadest, ambil 1 mL sampel tambahkan 1 mL pereaksi ninhydrin, kemudian panaskan sampai mendidih. Reaksi positif terbentuknya warna biru keunguan (Auterhoff, 2002).

F. Pembuatan Sediaan Gel

Masing-masing bahan ditimbang terlebih dahulu. Karbopol 940 dimasukkan dalam mortir yang telah berisi air panas, ditunggu sampai mengembang, kemudian aduk dengan cepat. Tambahkan campuran gliserin dengan *propil paraben*, setengah campuran aquadest dengan *methyl paraben* dan lendir bekicot kemudian digerus ad homogen. Kemudian ditambahkan setengah aquadest sambil diaduk ad homogen. Kemudian ditambahkan TEA dan digerus sampai terbentuk sediaan gel.

G. Uji Mutu Fisik Gel Lendir Bekicot (*Achatina fulica*)

a. Uji Organoleptis

Uji organoleptis adalah uji dengan melihat bentuk, warna dan bau. Pengamatan ini dilakukan secara visual (Kori Yati dkk, 2018).

b. Uji Homogenitas

Pengujian dilakukan dengan cara menimbang 0,1 gram sediaan gel. Jika dioleskan pada sekeping kaca atau bahan transparan lain yang cocok harus menunjukkan susunan yang homogen dengan ditandai semua bahan yang digunakan tercampur secara merata (Depkes, 1995).

c. Uji pH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter, elektroda atau pH meter dikalibrasi dengan menggunakan larutan dapar pH 4 atau pH 7, proses kalibrasi selesai apabila nilai pH yang tertera sesuai dengan nilai pH larutan dapar dan stabil, dan kemudian elektroda atau pH meter dicelupkan dalam sediaan gel (Draelos dan Laurend, 2006).

d. Uji Daya Lekat

Uji daya lekat dilakukan dengan menggunakan alat uji daya lekat. Sediaan ditimbang 0,25 gram, sediaan diletakkan diatas dua gelas obyek yang dipasang pada alat uji kemudian ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Kemudian ditambahkan beban 80 gram pada alat uji. Dicatat waktu pelepasan dari gelas objek (Ulaen dkk, 2012).

e. Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan menggunakan alat kaca berskala. Sediaan ditimbang 0.5 gram. Sediaan diletakkan dalam kaca berskala dibagian tengah. Diatas sediaan diletakkan kaca lainnya dan ditambahkan dengan pemberat secara bergantian yaitu 50 gr, 100 gr, 150 gr, 200 gr dan 250 gr. Didiamkan selama 1 menit dan dicatat diameter penyebarannya dari empat bagian sisi dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali (Garge *et al*, 2002).

H. Uji Iritasi

Pengujian ini menggunakan hewan uji tikus. Punggung hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan, yaitu:

- Kelompok pertama atau kelompok kontrol negatif (-) (K -) merupakan kelompok hewan coba yang kulitnya tidak diberikan terapi apapun.
- Kelompok kedua (P1) merupakan kelompok hewan coba yang kulitnya diberikan terapi gel lendir bekicot (*Achatina fulica*) formulasi I.
- Kelompok ketiga (P2) merupakan kelompok hewan coba yang kulitnya diberikan terapi gel lendir bekicot (*Achatina fulica*) formulasi II.
- Kelompok keempat (P3) merupakan kelompok hewan coba yang kulitnya diberikan terapi gel lendir bekicot (*Achatina fulica*) formulasi III.

Hewan dicukur bulunya, kemudian dioles dengan 0,5 gram sediaan, ditutup dengan kasa steril dan direkatkan dengan plester. Setelah 72 jam, hewan dikorbankan dengan dislokasi leher, kemudian plester dibuka dan diambil jaringan yang telah diberi perlakuan. Kulit yang telah diambil diberi pewarnaan jaringan dengan (*Hematoxylin Eosin*). Preparat diamati menggunakan mikroskop cahaya, dilakukan skoring pada jaringan secara hispatologi. Derajat iritasi jaringan mengikuti tabel 2.

Tabel 2. Skor Derajat Iritasi.

Evaluasi	Skor
Tidak mengiritasi	0,0
Sangat sedikit iritasi	0,1-0,4
Sedikit iritasi	0,41-1,9
Iritasi sedang	2,0-4,9
Iritasi parah	5,0-8,0

I. Analisis Data

Data dari hasil evaluasi mutu fisik sediaan diuji normalitas dan homogenitas. Jika data normal dan homogen maka analisa data evaluasi sediaan menggunakan metode *One Way Anova* apabila nilai sig. < 0,05 maka uji dilanjutkan dengan uji *post hoc* LSD untuk mengetahui letak perbedaan. Jika hasil data evaluasi sediaan tidak homogen dan tidak normal analisa data menggunakan metode *Kruskal Wallis*. Data

dari hasil uji keamanan iritasi pada penelitian ini analisa data yang akan digunakan metode *Kruskal Wallis* karena data yang diperoleh merupakan data skoring.

HASIL PENELITIAN

A. Uji Kualitatif Protein Lendir Bekicot

Dari hasil uji kualitatif lendir bekicot dengan metode ninhydrin didapatkan hasil berwarna ungu tua yang menunjukkan bahwa lendir bekicot mengandung protein.

B. Uji Mutu Fisik Gel Lendir Bekicot

Uji mutu fisik sediaan gel dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahwa gel yang telah dibuat sesuai dengan persyaratan. Hasil uji mutu fisik gel lendir bekicot dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Mutu Fisik Sediaan Gel Lendir Bekicot (*Achatina fulica*)

Uji Mutu Fisik	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Organoleptis	Jernih, tidak berbau	Jernih Kekuningan, tidak berbau	Jernih Kekuningan, tidak berbau
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen
pH	6,03 ± 0,047	6,07 ± 0,047	6,13 ± 0,047
Daya Lekat (detik)	6,49 ± 0,067	6,69 ± 0,222	6,95 ± 0,070
Daya Sebar (cm)	5,17 ± 0,047	5,23 ± 0,047	5,26 ± 0,047

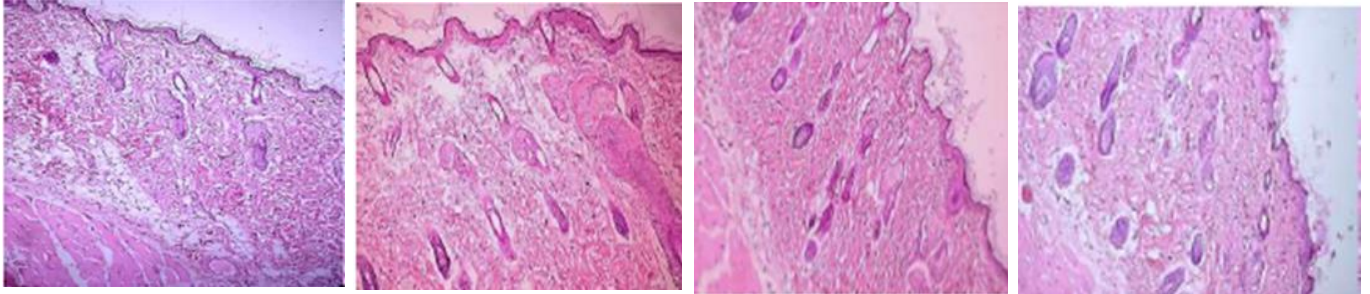
C. Uji Iritasi

Hasil uji iritasi dapat dilihat pada tabel 4 dan gambar 1.

Tabel 4. Hasil pengamatan mikroskopis jaringan kulit tikus mencit jantan dengan mikroskop cahaya

Pengamatan	Kontrol (-)*	Perlakuan 1*	Perlakuan 2*	Perlakuan 3*
Epidermis				
- Liquefaction	0,22 ± 0,441	0,33 ± 0,500	0,44 ± 0,527	0,11 ± 0,333
Subepidermis				
- Edema	0,11 ± 0,333	0,33 ± 0,500	0,33 ± 0,500	0,44 ± 0,527
Dermis				
- Collagen fiber swelling	0 ± 0	0,22 ± 0,441	0 ± 0	0,22 ± 0,441
- Inflammatory cell filtration	0 ± 0	0,33 ± 0,500	0,33 ± 0,500	0,66 ± 0,500
Hypodermis				
- Collagen fiber swelling	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
- Inflammatory cell filtration	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Skin appendages				
- Degeneration	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Rata – rata ± SD	0,33 ± 0,471	1,21 ± 0,590	1,10 ± 0,660	1,43 ± 0,570

*data hasil replikasi 3 kali pengamatan pada tiga lapang pandang



Gambar 1. Hasil uji iritasi kulit tikus mencit jantan dengan pewarnaan hematoxyllin eosin. Gambar diambil dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x.

PEMBAHASAN

Uji kualitatif protein pada lendir bekicot dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahwa lendir bekicot yang akan digunakan sebagai bahan aktif benar – benar mengandung protein. Dari hasil uji dengan metode ninhydrin diperoleh hasil positif bahwa lendir bekicot mengandung protein. Untuk memastikan jenis protein dan kadar protein dapat dilakukan uji dengan SDS PAGE.

Uji organoleptis gel lendir bekicot yang diamati secara visual menunjukkan bahwa ketiga formula menghasilkan bentuk dan bau yang sama. Perbedaan dari ketiga formulasi terletak pada warna sediaan yaitu formulasi I menghasilkan warna sediaan bening, formulasi II dan III menghasilkan warna bening kekuningan. Ketiga formulasi memiliki perbedaan warna yang disebabkan karena adanya perbedaan konsentrasi dari lendir bekicot. Selanjutnya, pada uji homogenitas, didapatkan bahwa ketiga formulasi menghasilkan sediaan yang homogen dan tidak terdapat butiran kasar pada sediaan. Uji homogenitas sangat penting dilakukan karena sangat berpengaruh terhadap mutu dan aseptabilitas dari sediaan.

Rentang pH kulit antara 4,5 sampai 6,5. Nilai pH yang terlalu asam dapat mengiritasi kulit sedangkan terlalu basa dapat menyebabkan kulit menjadi kering. Nilai pH dari ketiga formulasi masih berada dalam rentang pH normal sehingga gel lendir bekicot diharapkan tidak dapat menyebabkan iritasi dan kering pada kulit. Hasil uji statistika dengan metode kruscall wallis menunjukkan bahwa dari ketiga formula tidak memiliki perbedaan yang bermakna.

Pengujian daya lekat bertujuan untuk mengetahui ikatan antara gel dengan kulit atau berapa lama gel menempel dikulit. Semakin tinggi daya lekat gel menunjukkan semakin kuatnya ikatan antara gel dengan kulit sehingga memungkinkan absorpsi obat lebih tinggi. Sebaliknya jika ikatan antara gel dengan kulit kurang optimal, sediaan akan

mudah terhapus dari kulit. Daya lekat sediaan yang baik adalah tidak kurang dari 4 detik. Daya lekat gel yang baik adalah yang dapat melapisi kulit secara merata, tidak menyumbat pori dan tidak mengganggu fungsi fisiologi kulit. Dilihat dari nilai rata-rata waktu lekat sediaan gel sesuai dengan syarat. Berdasarkan uji statistika dengan kruskall wallis ketiga formula tidak menunjukkan perbedaan bermakna pada daya lekat.

Pengujian daya sebar dilakukan untuk mengetahui kemampuan sediaan apakah menyebar secara merata pada kulit saat diaplikasikan. Pengujian daya sebar sangat penting dilakukan terkait kemudahan aplikasi, penghantar obat dan ekstrudabilitas gel dari kemasan. Gel yang baik memiliki nilai daya sebar yang tidak terlalu besar maupun kecil. Apabila daya sebar terlalu besar maka penggunaan sediaan menjadi tidak efektif pada tempat pengaplikasian karena akan menyebar ke bagian lainnya, sedangkan jika daya sebar terlalu kecil maka akan menemui kesulitan saat mengaplikasikan karena sediaan akan sulit menyebar secara merata di kulit. Daya sebar yang diinginkan pada penelitian ini adalah 5-7 cm. Dari ketiga formulasi menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan secara bermakna dalam daya sebar setelah dianalisa dengan statistika kruskall wallis.

Pengujian iritasi merupakan pengujian yang sangat penting dalam sediaan topikal karena merupakan salah satu syarat sediaan topikal yang baik adalah tidak mengiritasi kulit. Iritasi merupakan suatu fenomena inflamasi yang terjadi pada kulit akibat senyawa asing. Gejala yang dapat terjadi yaitu panas karena adanya dilatasi pembuluh darah pada daerah yang terkena paparan senyawa asing yang ditandai adanya kemerahan pada daerah tersebut (eritema) dan dapat juga menyebabkan edema. Uji iritasi dilakukan untuk mengetahui efek iritasi dari sediaan gel setelah digunakan pada kulit sehingga dapat diketahui tingkat keamanan sediaan gel. Pengujian iritasi ini dilakukan untuk mencegah timbulnya efek samping pada kulit (Wasitaatmadja, 1997).

Nilai indeks iritasi yang ditunjukkan pada kelompok kontrol (-) tidak mengiritasi, kelompok 2 dan kelompok 3 sedikit mengiritasi, dan kelompok 4 terjadi iritasi sedang. Perlakuan 2 kelompok 1 kontrol (-) tidak mengiritasi, kelompok 2 dan kelompok 3 sedikit mengiritasi, dan kelompok 4 terjadi iritasi sedang. Perlakuan 3 kelompok kontrol (-), kelompok 2 serta kelompok 3 sedikit mengiritasi dan kelompok 4 terjadi iritasi sedang. Pada kontrol (-) yang seharusnya tidak terjadi iritasi tetapi pada perlakuan 3 yang menghasilkan nilai indeks sedikit mengiritasi disebabkan karena saat proses pemberian kasa steril pada punggung tikus atau saat proses pencukuran bulu. Kelemahan dari penelitian ini yaitu tidak menggunakan basis gel sebagai kontrol negatif (-) atau pembanding sehingga tidak dapat mengetahui jika hasil iritasi disebabkan karena bahan

tambahan yang digunakan atau basis sediaan gel. Hasil pengujian iritasi dianalisa secara statistika nonparametrik *Kruscall Wallis*. Hasil uji *Kruscall Wallis* dipeperoleh nilai A.Sym Sig 0,03 yang artinya menunjukkan adanya perbedaan dalam data tersebut. Untuk melihat kelompok manakah yang mempunyai perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan uji *Post Hoc* LSD. Hasil uji *Post Hoc* LSD letak perbedaan pada formulasi 3 dengan semua perlakuan.

SIMPULAN

Sediaan gel lendir bekicot (*Achatina fulica*) dengan *gelling agent* karbopol 940 pada uji iritasi secara makros-kopis tidak terlihat mengiritasi kulit tikus putih (*Rattus novergicus*), sedangkan pada uji iritasi secara mikroskopis dapat disimpulkan pada formulasi I serta formulasi II sedikit mengiritasi dan pada formulasi III terjadi iritasi sedang.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk uji stabilitas dan aktivitas sediaan gel lendir bekicot agar mendapatkan hasil yang lebih efektif.

REFERENSI

- Afidah, N. 2008. *Formulasi Gel Kompleks Inklusi Meloksikam B-Siklodekstrin dengan Basis Aqupec HV 505* [skripsi]. Purwoketo:Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Auterhoff, H., & Kovar, K.A. (2002). *Identifikasi Obat*. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakope Indonesia*, Edisi IV Jakarta
- Draeos, Z.D., and L.A. Thaman. 2006. *Cosmetic Formulation of Skin Care Product*. New York: Taylor & Francis Group
- Draize, J.H. 1959. *Dermal Toxicity*. The Association of Food and Drug Officials of the United States, Bureau of Food and Drugs, Austin, TX. pp. 46-49.
- Garge, A., Aggarwal, D., Garg, S., dan Singla, A.K., 2002. *Spreading of Semisolid Formulation An Update,Pharmaceutical Technology*. September 2002. pp.84-105.
- Jones SG, Edwards R, Thomas DW. 2004. Inflammation and wound healing: the role of bacteria in the immunoregulation of wound healing. *Int J Low Extrem Wounds*. 3(4):201–8.
- Kori Yati, Mahdi Jufri. 2018. *Pengaruh Variasi Konsentrasi Hidroxy Propyl Methyl Cellulose terhadap Stabilitas Fisik Gel Ekstrak Tembakau (Nicotiana*

tabacumi) dan Aktivitasnya terhadap *Streptococcus mutans*. Pharmaceutical Sciences and Reserarch (PSR), 5(3), 2018, 133-141.

Purnasari, P.W., Dina F., Iwang Y. 2012. *Pengaruh Lendir Bekicot (Achatina fulica) terhadap Jumlah Sel Fibroblas pada Penyembuhan Luka Sayat Studi Eksperimental pada Kulit Mencit (Mus musculus)*. Sains Medika Journal of Medicine and Health.

Wasitaatmadja, S.M., 1997. *Penuntun Ilmu Kosmetik Medik*. Jakarta : Penerbit Universitas Indonesia.