

PERBEDAAN INDIKATOR-INDIKATOR PENYEMBUHAN LUKA TIKUS WISTAR DIABETIK DIINDUKSI CURCUMIN

Tejo Jayadi*, Arum Krismi

Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana

*Email: jeremytejo1@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengenali efek kurkumin pada penyembuhan luka pada tikus wistar diabetik dengan mengukur ekspresi TGF beta-1 dan p63, level inflamasi, pembentukan jaringan granulasi dan penutupan dermis.

Penelitian ini dikerjakan dengan metode quasi eksperimental berdesain post-test only dengan kelompok kontrol, pada 32 hewan coba diabetik. Enam belas hewan coba diinsisi diberi placebo (A), 16 berikutnya diinsisi diterapi salep kurkumin (B). Eksisi 3 hewan coba dikerjakan pada hari pertama, ke- 3, ke- 12, ke-18, ke- 30.

Inflamasi sampel B cenderung lebih berat dibandingkan sampel A, uji marginal homogeneity 0,197. Peningkatan inflamasi ini, dimungkinkan karena infeksi, sehingga pembentukan jaringan granulasi cenderung lebih lambat uji marginal homogeneity 0,564, dan penutupan dermis lebih lama dengan uji marginal homogeneity 0,083. Ekspresi TGF beta1 sampel B dibandingkan sampel A tidak didapatkan perbedaan dengan uji marginal homogeneity 0,814. Pada penelitian ini pemberian salep kurkumin meningkatkan ekspresi p63 semua pada semua sampel eksisi kulit tikus wistar diabetik.

Kata Kunci: *curcumin, TGF beta-1, p63, level inflamasi, jaringan granulasi, penutupan dermal*

1. PENDAHULUAN

Prevalensi penderita DM pada orang dewasa di dunia menurut *American Diabetes Association* (ADA) berkisar 8,7 % pada tahun 2002 sebagian besar tergolong diabetes tipe 2. *World Health Organization* (WHO) memprediksi akan terjadi kenaikan jumlah pasien dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi 21,3 juta pada tahun 2030. Diabetes Melitus di Indonesia diduga belum terdiagnosis sekitar 50 %. Prevalensi DM di Manado mencapai 6 %, di Kotamadya Surabaya 4,16 %. Di Desa Sangsit Buleleng Bali prevalensi DM 7,5 % (Yasa et.al., 2009). Penderita diabetes sering mengalami komplikasi ulserasi kaki, infeksi, neuropati perifer, yang sering menyebabkan amputasi pada ekstremitas yang terkena, sehingga cara penatalaksanaan dan perawatan luka baik dan benar adalah strategi pencegahan yang tepat (Clayton and Elasy, 2009).

Diabetes melitus dapat menimbulkan ulserasi kronik, disebabkan karena rendahnya bioavailabilitas faktor-faktor pertumbuhan dan reseptornya, produksi/ modifikasi protein-protein matrik yang tidak normal, hilangnya kapasitas proliferasi sel- sel di dalam lokasi luka, dan gangguan perfusi (Demidova-Rice et.al., 2012). Sel- sel punca epidermis berada pada daerah tonjolan folikel rambut, *interfollicular epidermis*, kelenjar sebacea dan didapatkan juga pada sel- sel mononuklear dalam darah perifer. Sel- sel punca keratinosit tersebut berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel dewasa, dapat dideteksi dengan marker p63, di mana p63 juga merupakan faktor transkripsi (Marasso and Tomic-Canic, 2005; Nair and Krishnan, 2013). Ekspresi TGF- β 1 tidak meningkat pada ulkus kaki diabetik dibandingkan dengan jaringan kulit penderita diabetik dan yang sehat. Kurangnya *up-regulation* TGF- β 1 pada ulkus kaki diabetes menjelaskan gangguan penyembuhan luka

kronik ini (Jude et.al., 2002). TGF- β 1 adalah stimulator terpenting untuk sintesis kolagen dan proteoglikan serta mencegah kerusakan matrik ekstraseluler, mendorong migrasi keratinosit dan reepitelisasi pada luka *partial thickness* hewan coba tikus. Autoinduksi TGF- β 1 pada sel keratinosit kulit *murine*, terjadi induksi maksimal TGF- β 1 yang terjadi antara 12 dan 24 jam dan membutuhkan sintesis protein (Bascom et.al., 1989). Penelitian pada hewan coba tikus dan guinea pig, curcumin mempercepat penyembuhan luka *punch out* dibandingkan dengan kontrol. Biopsi pada luka menunjukkan reepitelisasi epidermis peningkatan migrasi berbagai sel yaitu miofibroblas, fibroblas dan makrofag ke dalam daerah luka. Berbagai daerah luka menunjukkan banyak neovaskularisasi, dan pada pengecatan Masson's Trichrome menunjukkan deposisi kolagen yang lebih banyak pada pengaplikasian curcumin. Pengecatan imunohistokimia menunjukkan peningkatan ekspresi *transforming growth factor-beta1* (TGF- β 1) pada pengaplikasian curcumin (Sidhu et.al., 1999).

Selama penyembuhan luka, semua respon seluler terutama dikoordinasi oleh sel-sel punca mesenkimal yang mencetuskan signal parakrin dan melibatkan sel-sel punca hematopoiesis, sel-sel punca folikel rambut, sel-sel prekursor endotelial dan sel-sel punca epidermal. Reepitelisasi diorkestrai oleh proliferasi dan migrasi keratinosit yang berkorelasi dengan ekspresi p63, suatu marker dari sel-sel tidak terdiferensiasi yang berproliferasi, dan pertumbuhan dari epitel bertingkat (Barui et.al.,2011). p63 mempunyai peranan esensial dalam perkembangan epidermal dengan meregulasi program transkripsinya yaitu diferensiasi, *senescence* dan adesi pada berbagai jaringan epitelial dewasa. Pada pasien dengan epidermis sehat, p63 menjaga potensial sel progenitor dengan menjaga kemampuannya untuk membelah (Demidova-Rice et.al., 2012). Juga bertanggung jawab memproteksi fenotipe epitelial dari deplesi karena sel-selnya bermigrasi. Penurunan ekspresi p63 pada pasien dengan ulserasi venosa menyimpulkan insufisiensi protein untuk perawatan autoregenerasi dan pembelahan berkesinambungan; keduanya dibutuhkan untuk menunjang migrasi sel-sel tersebut. Disimpulkan adanya peranan p63 dalam regulasi proses penyembuhan dan patofisiologi dari ulserasi vena tungkai kronik. Ekspresi p63 dikonfirmasi terletak di lapisan suprabasal dalam epitelia yang telah mengalami reepitelisasi (Kurokawa et.al.,2007). Pada penelitian dengan hewan coba tikus dengan perlakuan luka bakar dan diaplikasikan curcumin secara topikal didapatkan luka dengan aplikasi curcumin sembuh lebih cepat yang mengindikasikan terjadi peningkatan jumlah sel-sel inflamasi, deposisi kolagen, angiogenesis, pembentukan jaringan granulasi, dan reepitelisasi yang dikonfirmasi dengan pemeriksaan histopatologi dan biokimia. Didapatkan juga peningkatan ekspresi *proliferating cell nuclear antigen* di dalam jaringan kulit dari hewan coba yang diberi aplikasi curcumin (Kulac et. al., 2013).

Masalah dalam penelitian ini yaitu mencari perbedaan ekspresi TGF- β 1, p63 dan waktu penyembuhan luka dinilai dari indikator faktor-faktor histopatologi yaitu penutupan luka, inflamasi dan penutupan dermis, yang diinduksi oleh curcumin dibandingkan dengan *placebo*, pada penyembuhan luka tikus Wistar diabetik.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dikerjakan dengan metode penelitian quasi eksperimental dengan model *posttest only with control group design*, di mana pengujian dilakukan setelah perlakuan dengan kelompok kontrol sebagai pembandingnya.

Populasi pada penelitian ini adalah tikus wistar usia 12-6 bulan dengan berat 250-300 gram didapat dari penangkaran di LPPT IV UGM. Sampel penelitian diambil dari jaringan lokasi luka dan dibuat blok parafin untuk pemeriksaan histopatologi dan imunohistokimia. Kriteria inklusi: Tikus wistar jantan, kondisi sehat (bergerak dengan aktif). Kriteria eksklusi: Tikus wistar jantan menunjukkan perubahan perilaku (aktivitasnya tampak lemah dan malas).

Salep berisi curcumin dan salep berisi vaselin (placebo) disiapkan. Curcumin diperoleh dengan cara mengekstrak metabolit sekunder dari kunyit (*curcuma longa*) kemudian difraksinasi dengan etil asetat. Pembuatan salep curcumin dilakukan di Fakultas Farmasi UGM dan LPPT I UGM.

Induksi diabetes dengan Streptozotocin 40mg/kgBB dosis tunggal. Sepuluh hari setelah kadar glukosa darah mencapai dua kali dari level gula darah awal, tikus wistar digunakan sebagai hewan coba.

Sejumlah dua hewan coba tikus wistar jantan diabetik tanpa perlakuan dikerjakan eksisi pada hari ke 30 dan dilanjutkan pemeriksaan histopatologi dan imunohistokimia. Tiga puluh tikus wistar diabetik dikerjakan injeksi streptozotocin sesuai prosedur untuk menginduksi diabetes. Lima belas hewan coba tikus wistar jantan dengan perlakuan diabetik dilakukan insisi berdasarkan prosedur, kemudian diberikan placebo satu hari sekali, dan dilakukan pengambilan tiga sampel sesuai prosedur setiap hari ke-1, 3, 12, 18 dan 30. Sampel diberi label A. Lima belas hewan coba tikus wistar jantan dengan perlakuan diabetik dilakukan insisi berdasarkan prosedur, kemudian diberikan salep curcumin satu hari sekali. Sampel diberi label B. Tiga hewan coba dieksisi sesuai prosedur setiap hari ke-1, 3, 12, 18 dan 30. Sampel A dan B dikerjakan pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan H&E dan pengecatan imunohistokimia TGF-beta1 dan p63.

Insisi dilakukan dengan anestesi umum menggunakan ketalar 2 mg intraperitoneal. Setelah hipoestesia tercapai, rambut pada regio tulang belakang di punggung paling atas dicukur, kemudian dilakukan insisi sepanjang 2 cm sampai seluruh ketebalan kulit (epidermis sampai hipodermis) terpisah (Braiman-Wiksman et.al., 2007; Lima et.al., 2012).

Salep curcumin (0,1% salep dalam dasar vaselin) diaplikasikan pada luka sehari sekali, tipis-tipis menutupi seluruh permukaan luka. Luka dibiarkan terbuka, tidak ditutup dengan penutup apapun. Pengaplikasian salep curcumin dilakukan sampai hewan coba mendapatkan perlakuan eksisi (Mani et.al., 2002).

Pengambilan jaringan luka dilakukan dengan mengorbankan hewan coba menggunakan eter. Setelah efek tercapai, dilakukan eksisi pada bagian luka yang paling luas dengan mengikutsertakan jaringan kulit normal. Jaringan hasil eksisi segera dibentangkan di kertas untuk mempermudah pemotongan dengan *microtome*, kemudian difiksasi dalam *formalin buffer* 10% dan dibuat blok parafin, kemudian dipotong dengan ketebalan 4-6 mikron untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi dan imunohistokimia.

Variabel penelitian adalah: variabel bebas: placebo (vaselin album), salep curcumin 0,1%; dan variabel tergantung: ekspresi TGF- β 1, p63, waktu penutupan luka, tingkat inflamasi, dan penutupan dermal.

Penghitungan densitas ekspresi TGF beta 1 dengan cara semikuantitatif. Intensitas ekspresi diskor 4 yaitu 0 bila tidak ada ekspresi pada sel; 1 bila pewarnaan lemah; 2 bila pewarnaan sedang; 3 bila pewarnaan kuat. Persentasi sel yang terwarnai diskor: 0 bila tidak ada ekspresi pada sel; 1 bila < 33% ekspresi pada sel; 2 bila 33- 66% ekspresi pada sel, 3 bila >66% ekspresi pada sel. Dihitung pada 100 sel pada daerah hot spot. Kemudian dijumlah bila skor 0-1: negatif, 2: positif lemah, 3-4: positif sedang, 5-6: positif kuat (Culhaci et.al., 2005). Ekspresi TGF beta 1 diekspresikan pada fibroblast, neutrofil, limfosit, sel plasma dan makrofag (Epivatianos et.al., 2013; Brandes et.al., 1991). Pada penelitian ini ekspresi TGF beta 1 pada fibroblast yang dihitung dan diekspresikan pada sitoplasma dan membran sitoplasma.

Penghitungan ekspresi p63 secara semikuantitatif pada sel-sel basal dan suprabasal epidermis serta pada epitel di tonjolan folikel rambut : 0 bila tidak ada ekspresi pada sel; +1 bila <10% ekspresi sel positif; +2 bila 10-50% ekspresi pada sel; +3 bila >50% ekspresi pada sel. Intensitas diskor 0 bila tidak ada ekspresi pada sel; +1 bila ekspresi lemah; +2 bila ekspresi sedang; +3 bila ekspresi kuat. Dihitung pada 100 sel dari daerah hot spot. Kemudian

dijumlah bila skor 0-1: negatif, 2: positif lemah, 3- 4: positif sedang, 5- 6: positif kuat (Das et.al., 2010).

Waktu penutupan luka merupakan waktu yang dibutuhkan untuk terbentuknya jaringan granulasi dengan baik (100%). Jaringan granulasi dianggap terbentuk dengan baik setelah parameter berikut ini terpenuhi: (a) lapisan yang kontinu dari jaringan granulasi sepanjang kedalaman luka, (b) lapisan jaringan granulasi memenuhi seluruh kedalaman luka. Bila polanya setempat- setempat, dianggap negatif. Inflamasi dilihat melalui tiga parameter yaitu: (a) sebaran leukosit yang padat di tempat gap luka (>200 sel dalam area tertentu, dengan pembesaran 200X), (b) banyak leukosit dalam pembuluh darah pada gap luka, dan (c) abses pada gap luka. Luka dikategorikan sangat terinflamasi bila ada 2 parameter dalam gap luka (Braiman-Wiksman et.al., 2007). Penutupan dermal dilihat menggunakan pewarnaan H&E, dengan mengukur penutupan gap luka menggunakan ukuran milimeter pada mikroskop binokuler (Olympus CX21) dengan pembesaran 40X. Luka dengan gap kurang dari 2 mm antara dua tepi dermal dianggap telah menutup. Penghitungan jarak celah ditentukan dengan cara mengkonfersi *actual field of view* (AFV) 5 mikrometer dengan skala yang ada pada program *microsoftpaint 2007*. Dengan perbesaran 100% pada *microsoftpaint 2007*, satu kotak kecil = 1,875 mm. Bila 5 mikrometer (AFV) = 76 kotak kecil, maka hasil konfersi adalah 142,5 mm pada monitor.

Rerata kadar ekspresi TGF- β 1, p63, dan faktor-faktor histopatologi dianalisa menggunakan uji non parametrik *marginal homogeneity* dan uji korelasi *kendall's tau-b*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada telaah artikel oleh Gupta et.al., dipertegas dalam artikel oleh Chitragia et.al., menyebutkan curcumin mempercepat penyembuhan luka dengan menekan inflamasi, dengan mengatakan bahwa neutrofil dan makrofag pada ulkus kaki diabetes memproduksi radikal bebas dan protease yang meningkatkan inflamasi dan menurunkan penyembuhan luka. Curcumin memiliki aktifitas antibakterial terhadap berbagai gram negatif dan positif yaitu *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas* yang merupakan organisme tersering ditemukan pada ulkus kaki diabetik. Pada hari ke-7 dan ke-11, luka diabetes yang diolesi curcumin menunjukkan jaringan granulasi padat, peningkatan migrasi berbagai sel yaitu fibroblast dan miofibroblas, peningkatan jumlah pembuluh darah dan peningkatan kandungan kolagen (Chitragari et.al., 2013). Pada penelitian yang dikerjakan oleh Dwivedi dan Chaudhary, luka pada tikus diabetik diterapi dengan *Azadirachta indica* dan *Curcuma longa*, tidak didapatkan debris nekrotik dan neutrofil pada hari ke-14. Kurkumin meningkatkan reepitelisasi, memperbaiki neovaskularisasi, dan meningkatkan migrasi berbagai sel pada penyembuhan luka kulit. Hal ini disebabkan karena peningkatan level TGF beta1 (Zhang et.al., 2013).

Pada penelitian ini ketiga sampel A terinflamasi berat pada hari pertama dan satu sampel pada hari ketiga serta satu sampel hari ke 18 terinflamasi, sisa sampel hari ketiga, ke-12, ke-18, ke-30 tidak terinflamasi. Pembentukan jaringan granulasi ketiga sampel A pada hari pertama dan satu sampel hari ke-3 luka belum tertutup jaringan granulasi, sisa sampel hari ke-3, hari ke-12, hari ke-18, hari ke-30 sudah tertutup jaringan granulasi. Penutupan dermis pada sampel A ketiga sampel hari pertama dan hari ke-3 belum menutup, dermis menutup pada semua sampel pada hari ke-12, ke-18, ke-30. Ekspresi TGF beta-1 pada hari pertama ketiga sampel kuat, hari ke-3 satu sampel sedang dua sampel negatif, hari ke dua belas ketiga sampel negatif, hari ke-18 dan ke-30 semua sampel terekspresi kuat.

Pada hewan coba diabetik diterapi salep kurkumin yaitu sampel B, pada hari pertama 1 sampel terinflamasi berat dua sampel terinflamasi, hari ke-3 ketiga sampel terinflamasi berat, pada hari ke-12 satu sampel terinflamasi berat dua sampel terinflamasi, pada hari ke-18 dan ke-30 semua sampel tidak terinflamasi. Pembentukan jaringan granulasi sampel B, pada hari pertama ketiga sampel belum menutup, hari ke-3, ke-12, ke-18, ke-30 semua

sampel telah menutup. Pembentukan dermis pada sampel B hari ke-1, ke-3, ke-12 semua sampel belum menunjukkan penutupan dermis, hari ke-18 dan ke-30 semua sampel telah menunjukkan penutupan dermis. Ekspresi TGF beta1 sampel B hari ke-1 menunjukkan dua sampel terekspresi kuat 1 sampel negatif, hari ke-3 dua sampel terekspresi kuat satu sampel terekspresi sedang, hari ke-12 dua sampel terekspresi kuat satu sampel terekspresi sedang, hari ke-18 dua sampel terekspresi kuat satu sampel negatif, hari ke-30 satu sampel terekspresi kuat 2 sampel negatif.

Penelitian ini tidak sesuai dengan teori di atas dan menunjukkan inflamasi sampel B cenderung lebih berat dibandingkan sampel A tanpa terapi kurkumin, meskipun tidak bermakna secara statistik uji *marginal homogeneity* 0,197. Peningkatan inflamasi ini, dimungkinkan karena terjadi infeksi, sehingga pembentukan jaringan granulasi sampel A cenderung lebih cepat dibandingkan sampel B meskipun tidak bermakna secara statistik dengan uji *marginal homogeneity* 0,317, sedang penutupan dermis sampel B lebih lama dibandingkan sampel A dengan uji *marginal homogeneity* 0,083. Ekspresi TGF beta1 sampel B dibandingkan sampel A tidak didapatkan perbedaan dengan uji *marginal homogeneity* 0,814.

Pada penelitian ini sampel A ekspresi p63 hari pertama, 1 sampel ekspresi kuat 2 sampel ekspresi sedang, hari ke-3 1 sampel ekspresi kuat 2 sampel ekspresi sedang, hari ke-12 2 sampel ekspresi kuat 1 sampel ekspresi sedang, hari ke-18 2 sampel ekspresi kuat 1 sampel ekspresi sedang, hari ke-30 ketiga sampel ekspresi kuat. Sedangkan p63 pada semua sampel B terekspresi kuat. Sehingga didapatkan perbedaan ekspresi p63 antara sampel A dan sampel B, dengan uji *marginal homogeneity* 0,025.

Tabel I. Inflamasi dengan hari penyembuhan luka

Sangat terinflamasi	3/1	1/3	0/1	0/0	0/0
Terinflamasi	0/2	0/0	0/2	0/0	0/0
tidak terinflamasi	0/0	2/0	3/0	3/3	3/3
	Hari ke 1	Hari ke 3	Hari ke 12	Hari ke 18	Hari ke 30

Tabel II. Ekspresi TGF beta satu dengan hari penyembuhan luka

Ekspresi kuat	3/2	0/2	0/2	3/2	3/1
Ekspresi sedang	0/0	1/1	0/1	0/0	0/0
Ekspresi lemah	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Negatif	0/1	2/0	3/0	0/1	0/2
	Hari 1	Hari 3	Hari 12	Hari 18	Hari 30

Keterangan tabel 1 dan 2: A/B A: DM kurkumin (-), B: DM kurkumin (+)

Tabel III. Jaringan granulasi dengan hari penyembuhan

Luka sudah menutup	0/0	2/3	3/3	3/3	3/3
Luka belum menutup	3/3	1/0	0/0	0/0	0/0
	Hari 1	Hari 3	Hari 12	Hari 18	Hari 30

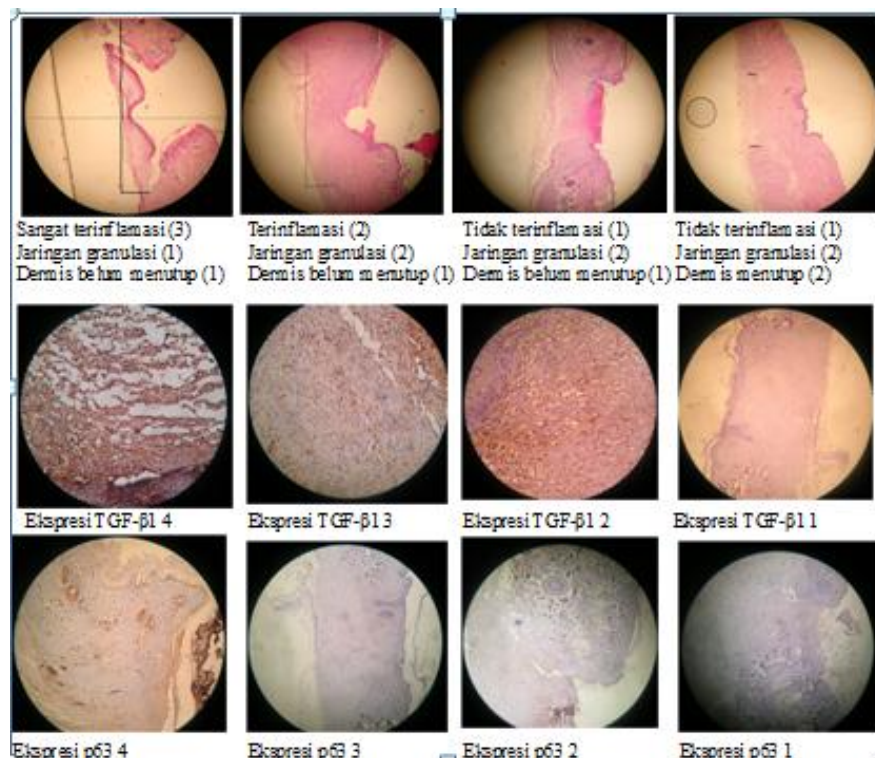
Tabel IV. Penutupan dermis dengan hari penyembuhan luka

Sudah menutup	0/0	0/0	3/0	3/3	3/3
Belum menutup	3/3	3/3	0/3	0/0	0/0
	Hari 1	Hari 3	Hari 12	Hari 18	Hari 30

Keterangan tabel 3 dan 4. A/B A: DM kurkumin (-), B: DM kurkumin (+)

	Hari 1	Hari 3	Hari 12	Hari 18	Hari 30
Ekspresi kuat	1/3	1/3	2/3	2/3	3/3/
Ekspresi sedang	2/0	2/0	1/0	1/0	0/0
Ekspresi lemah	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Negatif	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

Keterangan tabel 5. A/B. A: DM kurkumin (-), B: DM kurkumin (+)



4. KESIMPULAN DAN SARAN

Pada penelitian ini pemberian salep kurkumin meningkatkan ekspresi p63 semua pada semua sampel eksisi kulit tikus wistar diabetik. Meskipun demikian waktu penyembuhan luka dan penutupan dermis tikus wistar diabetik yang diberi salep kurkumin maupun yang tidak diberi salep kurkumin tidak menunjukkan perbedaan secara bermakna, hal ini dimungkinkan karena adanya infeksi pada luka kulit tikus wistar. Kurkumin dapat memodulasi sel punca epitel epidermis di mana, terapi modulasi stem cells sendiri maupun yang telah berdiferensiasi Transient Amplifying (TA) keratinocyte, dapat mempercepat proses penyembuhan dengan hasil yang baik (Senoo, 2013).

Peneliti menyarankan penelitian dengan jumlah sampel yang lebih besar dan tertuju pada satu kondisi klinis dan satu waktu tertentu, sehingga khasiat kurkumin pada proses penyembuhan luka dapat benar-benar diketahui.

5. DAFTAR PUSTAKA

Barui A, Banerjee P, Das RK, Basu SK, Dhara S, Chatterjee J, 2011. Immunohistochemical Evaluation of p63, E-Cadherin, Collagen I and III Expression in Lower Limb Wound

- Healing under Honey. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, volume 2011, Article ID 239864, 8 pages.
- Bascom CC, Wolfshohl JR, Coffey Jr RJ, Madisen L, Webb NR, Purchio AR, Derynck R, Moses HL; 1989. Complex regulation of transforming growth factor beta1, beta2, beta3 mRNA expression in mouse fibroblasts and keratinocyte by transforming factor beta1 and beta2. *Molecular and Cellular Biology*, volume 9, no12: 5508- 15.
- Braiman-Wiksman L, Solomonik I, Spira R, Tennenbaum T; 2007. Novel insight into wound healing sequence of events. *Toxicologic Pathology*, 35: 767- 79.
- Brandes ME, Mai UE, Ohura K, Wahi SM, 1991. Type I transforming factor-beta receptors on neutrophil mediate chemotaxis to transforming growth factor beta; *Journal of Immunology*, 147(5): 1600-6.
- Chitragari G, Sumpio BJ, Sumpio BE, 2013. Indian Spices for Management of Diabetic Foot Complications. *Angiology*, volume 1, issue 2, 1000114.
- Clayton W, Elasy TA, 2009. A Review of the Pathophysiology, Classification, and Treatment of Foot Ulcers in Diabetic Patients. *Clinical Diabetes*, volume 27, number 2: 52- 8.
- Culhaci N, Sagol O, Karademir S, Astarcioglu H, Astarcioglu I, Soy Turk M et al 2005. Expression of transforming growth factor beta- 1 and p27^{Kip 1} in pancreatic adenocarcinoma: relation with cell- cycle associated proteins and clinicopathologic characteristics. *Boston Medical Center Cancer*, 5:98.
- Das RK, Venkatraghavan V, Sheet D, Chakraborty C, Ray AK, Chatterjee J, 2010. Evaluation of p63 Expression in Oral Sub-mucous Fibrosis. *Proceedings of 2010 International Conference on Systems in Medicine and Biology*.
- Demidova-Rice TN, Durham JT, Herman IM, 2012. Wound Healing Angiogenesis: Innovation and Challenges in Acute and Chronic Wound Healing. *Advances In Wound Care*, volume 1, number 1, doi: 10.1089/wound.2011.0308.
- Dwivedi VK, Chaudhary M, 2012. Comparative wound healing efficacy of ampicillin and becaplermin in diabetic rat. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol 6 (12): 883- 892.
- & Therapy, 4: 38.
- Epivatianos A, Andreadis D, Iordanidis S, 2013. Myofibroblasts and Transforming Growth Factor-Beta 1 in Reactive Gingival Overgrowths. *Journal of Oral & Maxillofacial Research*, vol.4, no 1, e3.
- Gupta SC, Patchva S, Koh W, Aggarwal BB, 2012. Discovery of Curcumin, a Component of the Golden Spice, and Its Miraculous Biological Activities. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 39 (3): 283- 299.
- Jude EB, Blakely R, Bulmer J, Boulton AJ, Ferguson MW, 2002. *Transforming growth factor-beta 1, 2, 3 and receptor type I and II in diabetic foot ulcers*. - *Diabet. Med.* - ; 19(6); 440-7.
- Kulac M, Aktas C, Tulubas F, Uygur R, Kanter M, Erboğa M, Ceber M, Topcu B, Ozen OA, 2013. The effects of topical treatment with curcumin in burn wound healing in rats. *Journal of Molecular Histology*, 44 (1): 83- 90.
- Kurokawa I, Mizutani H, Kusumoto K, Nishijima S, Tsujita-Kyutoku M, Shikata N, Tsubara A, 2007. Cytokeratin, filaggrin, and p63 expression in reepithelialization during human cutaneous wound healing. *Wound Repair Regen*, 14 (1): 38- 45.
- Lima MHM, Caricilli AM, de Abreu LL, Araujo EP, Pelegrinelli FF, Thirone ACP, Tsukumo DM, Pessoa AFM, dos Santos FM, de Moraes MA, Carnevali JBC, Velloso LA, Saad MJA, 2012. Topical insulin accelerates wound healing in diabetes by enhancing the AKT and ERK pathway: A double-blind placebo-controlled clinical trial. *PLoS ONE* 7(5): e36974.

- Mani H, Sidhu GS, Kumari R, Gaddipati JP, Seth P, Maheshwari RK, 2002. Curcumin differentially regulates TGF- β 1, its receptors and nitric oxide synthase during impaired wound healing. *BioFactors* 16; 29- 43.
- Marasso MI, Tomic-Canic M, 2005. Epidermal stem cells: the cradle of epidermal determination, differentiation and wound healing. *Biology of the Cell*, 97: 173- 83.
- Nair RP, Krishnan LK, 2013. Identification of p63⁺ keratinocyte progenitor cells in circulation and their matrix-directed differentiation to epithelial cells. *Stem Cell Research*
- Sidhu GS, Mani H, Gaddipati JP, Singh AK, Seth P, Banaudha KK, Patnaik GK, Maheshwari RK, 1999. Curcumin enhances wound healing in streptozotocin induced diabetic rats and genetically diabetic mice. *Wound Repair and Regeneration*, volume 7, Issue 5; 362- 74.
- Senoo M, 2013. Epidermal Stem Cells in Homeostasis and Wound Repair of the Skin. *Advance in Wound Care*, volume 2, number 6.
- Yasa IWP, Suastika K, Djelantik AAGS, Astawa IYM, 2009. Hubungan positif antara ulkus kaki diabetic dengan presentase sel bermarka CD4⁺ pembawa malondialdehid. *Journal of Internal Medicine*, 10(1): 1-21
- Zhang DW, Fu M, GaoSH, Liu JL, 2013. Curcumin and Diabetes: A Systemic Review. *Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, colume 2013, article ID 63603.