

Evaluasi Aktivitas Fraksi Hexan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*) dalam Persembuhan Luka pada Mencit

Evaluation of Hexane Fraction of Turmeric (Curcuma longa) on Wound Healing Activity in Mice

W. Winarsih¹⁾, I. Wientarsih²⁾, E. Handharyani¹⁾ dan R. M. Almira³⁾

Bagian Patologi¹⁾, Bagian Farmasi²⁾, Departemen Klinik³⁾, Reproduksi dan Patologi
Fakultas Kedokteran Hewan - Institut Pertanian Bogor

Abstract

The aim of this research was to evaluate the effectiveness of hexane fraction of ethanol turmeric extract on the wound healing process of mice. The extraction process was based on maseration method. Fourtyfive male albino mice aged 2-2,5 month were divided into 3 groups, all groups were received incision 1 cm on their back skin; group I was positive control (treated with commercial ointment which contained neomycin sulfat 5%); group II was negative control (without treatment); group III was treated by hexane turmeric fraction ointment. The commercial ointment and hexane turmeric fraction ointment were given topically twice a day. Three mice from each groups were euthanized at 2nd, 4th, 7th, 14th and 21st days post incision (pi) for gross pathology observation and microscopic lesions of the injured skin. Phytochemical analysis resulted that the hexane turmeric fraction contain alkaloid, kuinon and saponin. Gross examination revealed that the hexane turmeric fraction and positive control groups showed better result on woud healing process compared to the negative control. Histopathology of the hexane fraction treated mice showed few neutrophil with increase in collagenation and neovascularization compared to the negative control. Based on the macroscopic and microscopic observation, the hexane turmeric fraction has properties which promotes wound healing.

Keyword : wound healing, hexane turmeric fraction, ointment, pathology

Pendahuluan

Kulit mempunyai fungsi utama sebagai barier/pelindung dari lingkungan (Singer and Clark 1999). Kehilangan integritas kulit akibat luka atau cedera dapat menimbulkan berbagai komplikasi. Luka pada kulit adalah terdapatnya kerusakan morfologi jaringan kulit atau jaringan yang lebih dalam. Persembuhan luka adalah kembali menjadi normalnya integritas kulit dan jaringan yang berada dibawahnya (Singer and Clark 1999; Halper *et al.* 2003). Menurut Singer and Clark (1999) persembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks yang meliputi proses inflamasi (peradangan), granulasi, dan regenerasi sel/jaringan. Persembuhan luka juga merupakan proses yang dinamik dan interaktif yang melibatkan berbagai mediator seperti sitokin dan mediator peradangan; sel-sel darah; matrix ekstraseluler, dan sel-sel parenkim. Proses persembuhan luka meliputi tiga fase,

yaitu: inflamasi, pembentukan jaringan dan *remodeling* jaringan. Proses inflamasi merupakan suatu proses yang kompleks, bertujuan untuk mengeliminasi benda asing pada luka dan mengembalikan fungsi normal kulit (Halper *et al.* 2003). Kerusakan jaringan akibat luka akan menyebabkan gangguan pada pembuluh darah dan menyebabkan pengeluaran cairan dari pembuluh darah untuk memasuki jaringan ekstraseluler (Singer and Clark 1999). Luka yang terbentuk akan terisi oleh serum dan darah. Platelet menyebabkan koagulasi dan menghasilkan berbagai mediator yang dapat mengaktifkan makrofag dan fibroblas. Berbagai mediator vasoaktif dan faktor kemotaktik yang dihasilkan akan menarik sel leukosit ke tempat perlukaan.

Proses reepitelisasi pada luka terjadi beberapa jam setelah cedera (Singer and Clark 1999). Sel epidermis kulit akan berproliferasi secara

aktif bersamaan dengan proses pembentukan buluh darah baru atau neokapilerisasi/neovaskularisasi (Singer and Clark 1999; Halper *et al.* 2003). Sel endotel baru tumbuh sebagai tunas-tunas kapiler yang utuh dari tepi luka. Proses *remodeling* jaringan merupakan proses yang kompleks. Dua minggu setelah luka, fibroblas berfungsi sebagai myofibroblas yang bertanggung jawab untuk kontraksi dan menutup luka (Singer and Clark 1999).

Kejadian luka secara umum sangat tinggi prevalensinya, sehingga diperlukan obat luka yang mudah diperoleh dengan memanfaatkan tanaman obat yang tersedia di Indonesia. Kunyit telah lama dikenal dan digunakan sebagai obat tradisional. Kunyit (*Curcuma longa* Linn. atau *Curcuma domestica* Val.) termasuk dalam famili Zingiberaceae. Menurut Singh *et al.* (2002) dan Araujo dan Leon (2001) kunyit berkhasiat sebagai anti-peradangan, obat luka, antioksidan, anti-protozoa, anti-bakteri, anti-viral, anti-fungi dan anti-kanker. Kunyit apabila diberikan secara peroral cepat dimetabolisme dan 75% akan diekskresikan melalui feses dan urin (Araujo dan Leon 2001). Curcumin merupakan salah satu bahan aktif yang terkandung dalam kunyit. Curcumin sebagai obat anti peradangan efektif dalam mencegah edema hebat pada peradangan akut. Penelitian Sidhu *et al.* (1998) menunjukkan bahwa pemberian curcumin dapat mempercepat proses persembuhan luka pada hewan. Dalam penelitian ini dikaji potensi fraksi hexan ekstrak etanol rimpang kunyit dalam proses persembuhan luka pada hewan coba.

Bahan dan Metode

Rimpang Kunyit

Rimpang kunyit yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah kunyit yang dipanen pada umur 9 bulan. Kunyit diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITRO) Cimanggu Bogor. Identifikasi tanaman kunyit dilakukan di Herbarium Bogoriensi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong.

Ekstraksi Rimpang Kunyit

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Perendaman dilakukan selama 24 jam. Proses perendaman dilakukan 3 kali. Setelah itu dilakukan penampungan filtrat. Kemudian dilakukan evaporasi hingga dihasilkan ekstrak etanol kunyit semi padat. Ekstrak etanol semi solid dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan larutan hexan dan dihomogenisasikan selama 15 menit, kemudian didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan dengan hexan pada bagian atas dan etanol pada bagian bawah. Hexan dipisahkan dari etanol dengan cara disedot dengan pipet, kemudian dievaporasi dengan rotary evaporator sehingga diperoleh fraksi hexan semi solid. Selanjutnya dimasukkan ke dalam oven agar diperoleh fraksi hexan kental.

Penapisan Fitokimia

Metode fitokimia dilakukan untuk menganalisis senyawa yang terkandung dalam rimpang kunyit. Dalam metode ini senyawa yang dianalisis keberadaannya adalah senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan polifenol, saponin, dan senyawa kuinon.

Pembuatan Salep Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit

Fraksi hexan kunyit (5%) dihomogenisasi dengan vaselin kuning menggunakan mortar. Setelah itu disimpan dalam tabung dan diberi label.

Perlukaan pada Mencit

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit jantan umur 8 minggu berat badan 20-30 gram. Mencit yang digunakan berjumlah 45 ekor dan dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan; kontrol negatif yaitu kelompok mencit yang dilukai namun tidak diberikan pengobatan; kontrol positif yaitu kelompok mencit yang diberikan obat komersial mengandung neomycin sulfat 5% dan ekstrak plasenta; dan kelompok mencit yang dilukai dan diberikan sediaan salep fraksi hexan. Perlukaan pada mencit dilakukan dengan cara menyayat punggung mencit sepanjang satu setengah sentimeter sejajar *os. Vertebrae*. Aplikasi obat luka dan salep fraksi hexan kunyit dilakukan

setiap hari sebanyak dua kali sehari selama 21 hari pasca perlukaan.

Pengamatan Patologi Anatomis

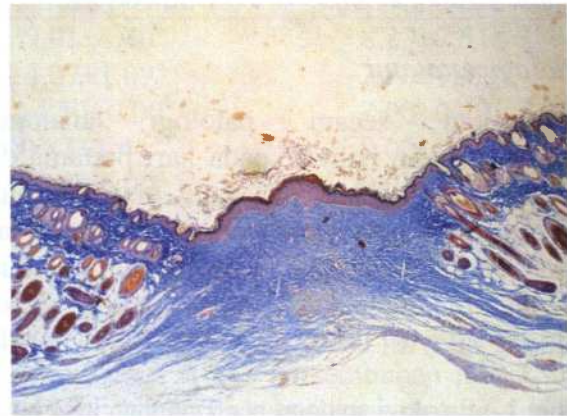
Mencit perlakuan dan mencit kontrol diamati setiap hari khususnya pada hari ke 2, 4, 7, 14 dan 21 setelah perlukaan. Pengamatan patologi anatomi dilakukan terhadap mencit perlakuan dan mencit kontrol menggunakan metode deskriptif dengan membandingkan proses persembuhan yang terjadi peubah yang diamati adalah menyempitnya luka, oedema, warna luka, dan keberadaan keropeng.

Pengamatan Histopatologi

Sampel kulit untuk pengamatan histopatologi diambil pada hari ke 2, 4, 7, 14 dan 21 pasca perlukaan. Pengambilan sampel kulit diambil didaerah punggung yang dilukai. Kulit difiksasi dengan larutan BNF (Buffer Neutral Formaline) 10%. Setelah itu dibuat preparat histopatologi yang kemudian diberi pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE) dan Mason Trichrome (MT).

Peubah yang diamati adalah jumlah polimorfonuklear (netrofil), neovaskularisasi, persentase reepitelisasi, serta persentase luasan kolagen. Pengamatan jumlah sel netrofil menggunakan mikroskop Olympus BX51TF, Japan dan pemotretan dengan videophoto dalam 10 lapang pandang dimana luas tiap lapang pandang adalah $20450 \mu\text{m}^2$. Pengukuran panjang luka dan reepitelisasi menggunakan video mikrometer FDR-A IV-560 dengan perbesaran objektif empat kali. Presentase reepitelisasi dan jaringan ikat diamati menggunakan video micrometer JVC, Japan dengan perbesaran objektif empat kali. Perhitungan panjang jaringan ikat kolagen dan reepitelisasi ditentukan dengan cara mengkonfersi skala bar yang digunakan pada video mikrometer dengan perbesaran 180x, yaitu $200 \mu\text{m}$ menjadi 3,6 cm. Kemudian dibuat pola kotak-kotak dengan ukuran $3,6 \times 3,6 \text{ cm}$ dengan kertas plastik (Gambar 1). Kertas plastik yang sudah berpola ditempelkan pada monitor video micrometer. Setelah itu, panjang luka dihitug. Perhitungan presentase jaringan ikat ditentukan dengan menggunakan rumus: luas jaringan ikat yang terbentuk dibagi luas luka dikali 100%. Persentase reepitelisasi dihitug menggunakan rumus sebagai berikut: panjang

luka dengan epitel baru dibagi panjang luka keseluruhan dikalikan 100%.



Gambar 1. Metode penentuan luasan jaringan ikat pada pengamatan histopatologi jaringan luka (MT). Setiap kotak sisinya berukuran $200 \mu\text{m}$.

Analisis Data

Hasil pengamatan patologi anatomis dianalisa secara deskriptif. Pengamatan histopatologi berupa data jumlah sel polimorfonuklear (netrofil), neovaskularisasi, persentase luasan jaringan ikat kolagen, dan persentase reepitelisasi diuji secara statistika menggunakan uji sidik ragam ANOVA yang dilanjutkan dengan uji wilayah berganda Duncan untuk mengetahui hasil yang diperoleh berbeda secara nyata atau tidak.

Hasil dan Pembahasan

Penapisan Fitokimia

Uji penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa dalam ekstrak. Dari penggolongan senyawa kimia ini dapat diperkirakan manfaat/khasiat suatu tanaman obat. Berdasarkan uji penapisan fitokimia yang dilakukan, senyawa yang terkandung pada fraksi hexan kunyit adalah alkaloid, kuinon, dan alkaloid. Alkaloid merupakan golongan zat sekunder yang terbesar (Harborne 1987). Alkaloid dapat bersifat sebagai antitumor (Sutaryadi 1991 dalam Yuliani 2001). Senyawa kuinon dapat bersifat sebagai antibiotik dan penghilang rasa sakit. Menurut Robinson (1995), kuinon berperan sebagai antibakteri dan sebagai pewarna. Pada persembuhan luka, kuinon berperan dalam proses pencegahan masuknya bakteri pada luka sehingga dapat mempercepat proses persembuhannya.

Sedangkan saponin berfungsi sebagai hipokolesterolemik, *imunostimulator*, anti karsinogenik dan anti bakteri (Sayekti 2008).

Patologi Anatomi

Pengamatan secara patologi anatomis, memperlihatkan bahwa pada hari pertama dan kedua keadaan luka pada kulit masih terbuka dan memperlihatkan warna kemerahan baik pada kontrol positif, negatif, maupun pelakuan dengan menggunakan salep fraksi hexan rimpang kunyit (Tabel 1). Menurut Spector dan

Spector (1993), kulit yang tersayat akan kehilangan retraksinya dan membuat celah yang terbuka. Cedera yang mendadak membuat perubahan dalam pembuluh darah kecil yang menyusun reaksi inflamasi akut. Segera setelah terjadinya luka, akan terjadi konstiksi singkat arteriola yang diikuti dengan dilatasi. Hal ini menyebabkan menjadi merahnya anyaman kapiler darah sehingga luka pada hari ke-1 dan ke-2 menunjukkan warna kemerahan atau hiperemi (Price dan McCarty 1992).

Tabel 1. Patologi anatomi persembuhan luka kulit

Hari ke	Kontrol negatif	Kontrol positif	Salep fraksi hexan
1	Panjang luka 1,5 cm, luka basah, merah, dan terbuka	Panjang luka 1,5 cm, luka basah, merah dan terbuka	Panjang luka 1,5 cm, luka basah, merah, dan terbuka
2	Panjang luka 1,36 cm, luka basah, merah, dan terbuka	Panjang luka 1,30 cm, luka masih terbuka dan mulai mengering	Panjang luka 1,30 cm, luka masih terbuka, mulai mengering, dan merah pucat
4	Panjang luka 1,20 cm, luka kering, dan merah pucat	Luka menutup dan kering. Panjang luka 1 cm	Luka menutup dan kering. Panjang luka 0,5 cm
7	Luka semakin menutup, panjang luka 1,07 cm	Luka semakin mengecil, panjang luka 0,27 cm	Luka semakin mengecil, panjang luka 0,27 cm
14	Masih terlihat bekas luka	Masih terlihat bekas luka dan mulai ditumbuhi rambut	Bekas luka tidak terlihat dan mulai ditumbuhi rambut
21	Masih terlihat bekas luka dan mulai ditumbuhi rambut	Bekas luka tidak terlihat dan ditutupi rambut	Bekas luka tidak terlihat dan ditutupi rambut

Pada hari ke-4 kondisi luka sudah mulai menutup pada ketiga perlakuan, hal ini karena telah terjadi proliferasi dari sel. Fibroblas bertanggung jawab pada persiapan menghasilkan produk struktur protein yang akan digunakan pada konstruksi jaringan (Tawi 2008). Perbaikan dari sistem sirkulasi menyebabkan tekanan hidrostatik seimbang sehingga luka mulai mengering dan oedema berkurang.

Pada hari ke-14 dan ke-21 luka sudah menutup sempurna. Pada saat ini fibroblas sudah mulai meninggalkan jaringan granulasi, warna kemerahan dari jaringan mulai berkurang karena pembuluh darah mulai regresi (Tawi 2008). Fraksi hexan ekstrak etanol menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan kontrol negatif yang tidak diobati.

Pengamatan Histopatologi

Pada pemeriksaan histopatologi infiltrasi sel radang netrofil pada kelompok kontrol terjadi pada hari ke 2, 4, 17 dan 14 hari pascaperlakuan (Tabel 2). Pada hari ke-2 polimorfonuklear (netrofil) telah hadir pada jaringan luka di setiap perlakuan. Menurut Price dan McCarty (1992) pada awal peradangan akut, aliran darah ke daerah yang meradang meningkat. Ketika viskositas darah meningkat dan aliran darah melambat, leukosit mulai mengalami marginasi ke daerah luka. Netrofil adalah leukosit yang pertama hadir pada proses persembuhan luka. Setelah terjadinya perlakuan sel-sel netrofil akan mengilfiltrasi jaringan luka dan terakumulasi pada benang-benang fibrin (McGavin dan Zachari 2007).

Tabel 2. Rataan jumlah netrofil pada mencit

Hari	Kontrol negatif	Kontrol positif	Salep fraksi hexan
2	15,71±5,24 ^a	9,01±4,40 ^a	8,23±7,51 ^a
4	3,70±1,29 ^a	4,07±1,09 ^a	2,50±1,42 ^a
7	10,58±2,99 ^b	14,50±0,00 ^a	2,00±0,29 ^c
14	3,00±2,00 ^a	0,83±1,44 ^{ab}	0,00±0,00 ^b
21	0,33±0,58 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a

Keterangan: Huruf superscript yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata. (P>0,05)

Pada hari ke-2 terjadi infiltrasi netrofil pada semua kelompok. Pada kelompok yang diberi salep fraksi hexan jumlah neutrofil hari ke-4 sudah mulai menurun. Pada hari ke-14 kelompok fraksi hexan sudah tidak ditemukan netrofil. Penurunan jumlah netrofil pada kelompok fraksi hexan dapat disebabkan sediaan salep fraksi hexan rimpang kunyit mengandung senyawa kuinon dan saponin yang berfungsi sebagai anti mikrobial (Robinson 1995).

Pembentukan pembuluh darah baru memiliki arti penting dalam proses persembuhan luka (Singer and Clark 1999). Pada hari ke-2 dan ke-4 terlihat pada kontrol positif dan kontrol negatif belum terbentuk pembuluh darah baru, sedangkan pada kelompok yang diberi salep fraksi hexan pertumbuhan buluh darah baru sudah mulai terjadi (Tabel 3).

Tabel 3. Rataan jumlah neovaskularisasi pada mencit

Hari	Kontrol negatif	Kontrol positif	Salep fraksi hexan
2	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,33±0,58 ^a
4	0,00±0,00 ^a	0,33±0,58 ^a	0,33±0,58 ^a
7	0,67±1,15 ^b	8,00±1,73 ^a	8,33±5,13 ^a
14	5,00±1,00 ^a	6,33±2,52 ^a	1,33±1,15 ^b
21	6,00±1,00 ^a	0,00±0,00 ^b	0,33±0,58 ^b

Keterangan: Huruf superscript yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata (P>0,05)

Menurut Martin (2007) keberadaan makrofag yang mengeluarkan FGF2 dan vaskular endotelial growth faktor (VEGF) akan memicu pertumbuhan neovaskularisasi. Menurut Spector dan Spector (1993), setelah dua minggu arteriola yang baru sudah mulai terbentuk dan memberikan suplai bagi saraf vasomotorik. Neovaskularisasi sangat diperlukan dalam proses persembuhan luka untuk membawa oksigen dan nutrisi yang sangat diperlukan untuk metabolisme sel (Singer and Clark 1999). Pembentukan kapiler baru yang cepat pada kelompok fraksi hexan dan kontrol positif menyebabkan proses persembuhan luka pada kelompok tersebut berlangsung lebih cepat. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Sidhu *et al.* (1998) yang menyatakan bahwa pemberian curcumin pada tikus dan marmot dapat mempercepat reepitelisasi dan meningkatkan migrasi sel radang, fibroblas dan myofibroblas

pada daerah luka. Selain itu juga pemberian curcumin dapat meningkatkan pembentukan neovaskularisasi dan deposisi jaringan ikat kolagen pada daerah luka, sehingga proses persembuhan luka berlangsung lebih cepat.

Reepitelisasi pada ketiga kelompok telah terjadi pada hari ke-2 pascaperlakuan (Tabel 4 dan Gambar 2). Menurut Singer and Clark (1999) dan Drakbar (2008) reepitelisasi dimulai beberapa jam setelah terjadi kerusakan. Sel epidermal dari luka akan berproliferasi (aktif bermitosis) dari tepi dalam ke tepi luka dan akhirnya membentuk barier yang menutupi permukaan luka sehingga mencegah masuknya mikroorganisme. Pada proses reepitelisasi terjadi migrasi dan proliferasi dari fibroblas yang akan mengeluarkan *keratinocyte growth factor* (KGF), sitokin dan reseptor yang akan memproduksi metalloprotein dan inhibitor.

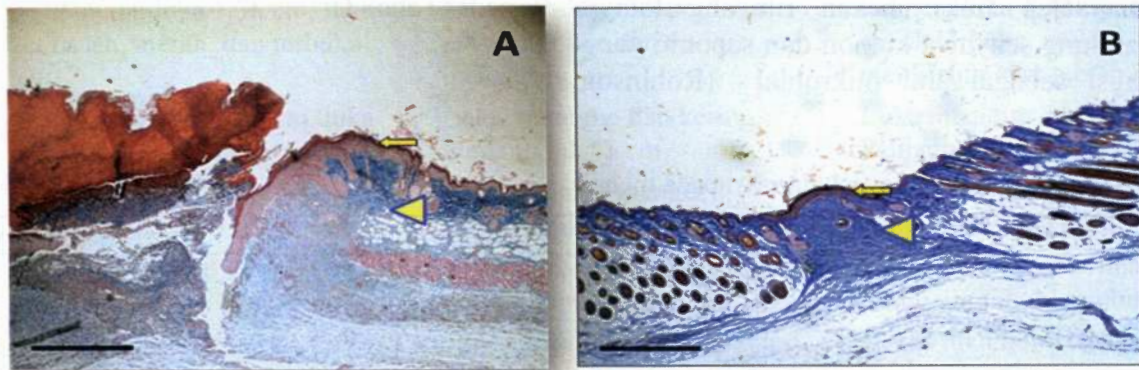
Matriks ekstraselular kemudian akan mensintesis fibronectin, vitronectin, dan kolagen (Middelkoop 2007). KGF berperan dalam stimulasi mitosis sel epidermal. Beberapa hari setelah perlukaan epitel permukaan di bagian tepi mulai melakukan regenerasi, kemudian lapisan epitel yang tipis akan bermigrasi menuju permukaan atas luka (Price

dan McCarty 1992). Setelah itu epitel akan menjadi matang sehingga menyerupai kulit di bawahnya. Senyawa alkaloid, tanin dan triterpenoid diketahui dapat berfungsi sebagai astringen dan antimikroba serta mempercepat reepitelisasi pada persembuhan luka (Nayak and Pereira 2006; Chokotol and van Hasselt 2005).

Tabel 4. Rataan presentase reepitelisasi pada mencit

Hari	Kontrol negatif	Kontrol positif	Salep fraksi hexan
2	44,43±19,28 ^a	33,33±33,35 ^a	33,33±57,74 ^a
4	33,33±33,35 ^a	33,33±33,35 ^a	55,57±50,92 ^a
7	77,80±19,23 ^a	77,80±19,23 ^a	55,57±50,92 ^a
14	88,90±19,23 ^a	86,67±57,74 ^a	100,00±0,00 ^a
21	100,00±0,00 ^a	100,00±0,00 ^a	100,00±0,00 ^a

Keterangan: Huruf superscript yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata ($P>0,05$)



Gambar 2. A. Kelompok Kontrol Negatif. B. Kelompok Fraksi Hexan : Reepitelisasi (←), jaringan ikat (◄) pada hari ke-7, pewarnaan MT, Bar: 200μm

Pada kelompok kontrol positif dan fraksi hexan jumlah persentase luasan kolagen telah mencapai 100% lebih awal dibandingkan kontrol negatif (Tabel 5). Hal ini menandakan persembuhan luka untuk kelompok kontrol positif dan fraksi hexan lebih cepat daripada kelompok negatif. Pada ketiga kelompok luas jaringan ikat kolagen mengalami penurunan pada hari ke 21. Menurut Drakbar (2008) fibroblas mulai berpindah ke daerah luka 24 jam setelah pembedahan/perlukaan. Diawali dengan mensintesis kolagen dan substansi dasar yang disebut proteoglikan. Kolagen adalah substansi protein yang menambah tegangan permukaan dari luka. Jumlah kolagen yang meningkat menambah kekuatan permukaan luka sehingga kecil kemungkinan luka terbuka. Menurut Singer and Clark (1999) pada 3 minggu awal

pembentukan jaringan ikat relatif cepat dan dapat memperkuat jaringan granulasi yang terbentuk. Setelah 3 minggu pembentukan jaringan ikat kolagen menurun. Tanin dapat menghambat pembentukan jaringan parut akibat pembentukan jaringan ikat secara berlebihan (Chokotol and van Hasselt 2005).

Pada penelitian ini secara umum sediaan salep fraksi hexan rimpang kunyit menunjukkan aktivitas anti peradangan dengan menurunkan jumlah sel radang pada daerah luka. Pemberian fraksi hexan juga mempercepat proses pertumbuhan neovaskularisasi dan reepitelisasi dibandingkan dengan kontrol negatif. Ekstrak rimpang kunyit memiliki potensi yang baik dalam proses persembuhan luka dan kemungkinan dapat dijadikan obat luka.

Tabel 5. Rataan persentase luasan kolagen pada mencit

Hari	Kontrol negatif	Kontrol positif	Salep fraksi hexan
2	0±0.00 ^a	0±0.00 ^a	0±0.00 ^a
4	0±0.00 ^a	0±0.00 ^a	0±0.00 ^a
7	33.30±0.00 ^a	66.67±33.35 ^a	55.57±19.28 ^a
14	88.90±19.23 ^a	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a
21	77.80±19.23 ^a	88.90±19.23 ^a	89.90±12.33 ^a

Keterangan: Huruf superscript yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata ($P>0.05$)

Daftar Pustaka

- Araujo CAC, Leon LL. 2001. Biological activities of *Curcuma longa* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 96 (5):723 – 728
- Chokotol L and van Hasselt L. 2005. The use of tannins in the local treatment of burn wounds – a pilot study. *Malawi med. J.* 17:19-20
- Drakbar. 2008. *Rawat Luka*. <http://drakbar.wordpress.com> [15 Agustus 2008].
- Halper J, Leshin LS, Lewis SJ, Li WI. 2003. Wound healing and angiogenic properties of supernatant from *Lactobacillus* cultures. *Exp. Biology and Med.* 228:1329 – 1337
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia edisi ke-2*. Bandung: Institut Teknologi Bandung. hlm 1-243
- McGavin D, Zachary J. 2007. *Pathologic Basic Veterinary Disease*. Philadelphia: Elsevier Inc.
- Middelkoop E. 2007. The International Jurnal of Lower Extremity Wounds. *SAGE Publication* 4:9-10.
- Martin P. 2007. Wound Healing-Aiming for Perfect Skin Regeneration. <http://www.sciencemag.org> *Science*. vol.276. [4 Agustus 2008].
- Nayak BS, Pereira LMP. 2006. *Catharanthus roseus* flower extract has wound-healing activity in Sprague Dawley rats. *BMC Complement Altern Med.* 2006; 6: 41.
- Price A, McCarty WL.1992. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Brahm U. Pendit, penerjemah: Huriawati Hartono, editor. Jakarta: EGC. Terjemahan dari: *Pathophysiology: Clinical Concept of Disease Processes*. hlm:57-76.
- Robinson T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi. Edisi ke 6. Padmawinata K, penerjemah. Bandung: ITB. Terjemahan dari *The Organic Constituents of Higher Plants*.
- Sayekti. 2008. *Sifat Saponin*. http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/58_10_Zat-ZatToksikAlamiah.pdf [1 Juni 2008].
- Sidhu GS, Singh AK, Thaloor D, Banaudha KK, Patnaik GK, Srimal RC, Maheshwari RK. 1998. Enhancement of wound healing by curcumin in animals. *Wound Repair Regen.* 6 (2):167-77
- Singh RR, Bose CM, Luthra PM. 2002. Antibacterial ctivity of *Curcuma longa* rhizome on pathogenic bacteria. *Current Sci.* 83 (6):737 – 740
- Singer AJ, Clark RAF.1999. Cutaneus Wond Healing. *N England J Med.* 341:738-154.
- Spector WG, Spector TD.1993. Pengantar Patologi Umum. ED ke 3. Soetjipto NS, Harsoyo,
- Hana A, Astuti P, penerjemah: Moelyono MPE, editor. Yogyakarta: Gajah Mada University Press. Terjemahan dari: *An Introduction to General Pathology. 3th Edition*. hlm 72-144.

Tawi. 2008. Proses Penyembuhan Luka.<http://syehaceh.wordpress.com> [14Juli 2008].

Yuliani S. 2001. Prospek pengembangan obat tradisional menjadi obat fitofarmaka. *Jurnal Litbang Pertanian*, 20(3):100-105.