

**Histopatologi Kulit pada Kesembuhan Luka Insisi Tikus Putih Pasca
Pemberian *Extracellular Matrix* (ECM) yang Berasal dari *Vesica Urinaria*
Babi**

*(HISTOPATOLOGY OF SKIN IN RECOVERY INCISION WOUND IN RAT POST GIVING
EXTRACELLULAR MATRIX (ECM) FROM PORK'S VESICA URINARIA)*

Stefanus Andre Gunawan¹, I Ketut Berata², I Wayan Wirata³

¹Mahasiswa Pendidikan Sarjana Kedokteran Hewan,

²Laboratorium Patologi Veteriner,

³Laboratorium Bedah Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana,

Jl. P.B. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234; Telp/Fax: (0361) 223791

e-mail: stefanusandregunawan@gmail.com

ABSTRAK

Luka merupakan kasus yang sering ditemui di tempat praktek atau klinik dokter hewan. Luka menjadi penting karena dapat menjadi pintu masuk mikroorganisme yang merugikan ke dalam tubuh. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan inovasi baru dalam mempercepat kesembuhan luka pada kulit dengan menggunakan *extracellular matrix* (ECM) yang berasal dari *vesica urinaria* babi, sehingga dapat mencegah masuknya mikroorganisme merugikan ke dalam tubuh. Penelitian ini menggunakan 32 ekor tikus putih jantan yang diinsisi di bagian punggungnya. Sampel terbagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol (tanpa perlakuan), dan kelompok perlakuan dengan pemberian *extracellular matrix* (ECM) pada luka insisi. Proses kesembuhan luka dari hewan coba diteliti secara histopatologi pada hari ke-1, ke-5, ke-10, dan ke-15 setelah insisi. Hasilnya adalah pemberian bahan ECM terbukti mempercepat proses kesembuhan luka insisi pada kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilihat dengan membandingkan infiltrasi seluler, produksi kolagen, ketebalan epitel, dan angiogenesis antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Kata-kata Kunci: *Extracellular matrix*; *vesica urinaria*; babi; luka insisi; tikus putih; histopatologi

ABSTRACT

Wounds are a case that is often found in the practice or vet clinic. Wounds are important because they can be the entrance of harmful microorganisms into the body. The purpose of this study was to obtain new innovations in accelerating wound healing in the skin by using extracellular matrix (ECM) originating from pig *vesica urinaria*, so as to prevent the entry of harmful microorganisms into the body. This study used 32 male white rats that were incised on the back. Divided into 2 groups, namely the control group (without treatment), and the treatment group with the administration of extracellular matrix (ECM) in the incision wound. The wound healing process from the experimental animals was examined histopathologically on the 1st, 5th, 10th and 15th days after the incision. The result is that the

administration of ECM material has been proven to accelerate the process of healing incisions in the skin of white mice (*Rattus novergicus*) seen by comparing cellular infiltration, collagen production, epithelial thickness, and angiogenesis between the control and treatment groups.

Keywords: Extracellular matrix; urinary vesica; pork; incision wound; rat; histopathology

PENDAHULUAN

Luka merupakan salah satu kasus yang sering ditemukan ditempat praktek atau klinik dokter hewan. Sesungguhnya, luka merupakan bagian yang penting untuk dipahami oleh seorang dokter hewan karena akan sering ditemui baik dalam bentuk kasus, untuk tujuan diagnostik, dan untuk tujuan penyembuhan. Abdurrahmat (2014) menyatakan bahwa luka merupakan suatu keadaan yang ditandai dengan rusaknya berbagai jaringan tubuh. Kerusakan berbagai jaringan tubuh yang disebabkan oleh terkoyaknya berbagai otot, jaringan ikat, dan kulit akibat sesuatu sering diikuti dengan rusaknya jaringan syaraf dan robeknya pembuluh darah yang menyebabkan terjadinya perdarahan. Luka yang ditandai dengan rusak atau hilangnya jaringan sangat memerlukan *extracellular matrix* (ECM) yang berperan sebagai pengganti jaringan sehingga mempercepat proses kesembuhannya.

Luka adalah hilangnya integritas epithelial dari kulit (Atik, 2009). Proses pemulihan luka bukan hanya meliputi penutupan luka pada permukaan kulit tetapi juga meliputi penutupan pembuluh darah yang terkoyak, regenerasi dari sel-sel perifer serta penggantian jaringan otot oleh serabut kolagen (Abdurrahmat, 2014). Proses penyembuhan luka dikelompokkan dalam tiga fase yang dapat saling tumpang tindih, yaitu fase inflamasi, fase pembentukan jaringan baru, dan fase *remodeling* (Rodero dan Khosrotehrani, 2010). Apabila terjadi luka, maka fungsi-fungsi dari kulit tidak dapat berjalan seperti yang seharusnya.

Extracellular matrix merupakan suatu jejaring kompleks berbagai komponen yang bertanggung jawab untuk membentuk dan memelihara arsitektur jaringan (Kreig dan Aumailley, 2011). *Extracellular matrix* berasal dari berbagai jaringan, termasuk katup jantung, pembuluh darah, kulit, saraf, otot rangka, tendon, ligamen, submukosa usus kecil, *vesica urinaria* dan hati (Badylak, 2009). Agarwal *et al.*, (2012) menyatakan bahwa pada kulit, serabut kolagen I adalah komponen struktural utama dari ECM dermal.

Proses kesembuhan luka dapat diamati secara mikroskopis dibawah mikroskop dengan melihat perubahan histopatologinya seperti tingkat infiltrasi seluler, produksi kolagen, neovaskularisasi, dan ketebalan epitel (Karayannopoulou *et al.*, 2011). Pada proses kesembuhan luka, kolagen yang terbentuk akan bertambah. Kolagen berperan sangat penting pada proses kesembuhan luka karena berperan dalam memperbaiki jaringan yang rusak atau hilang. Kolagen merupakan protein utama yang menyusun komponen ECM.

Penting dilakukan penelitian mengenai efektivitas pemberian ECM yang berasal dari *vesica urinaria* babi terhadap proses kesembuhan luka insisi pada tikus putih jantan. Peneliti memilih untuk menggunakan ECM yang berasal dari *vesica urinaria* babi karena pada saat dilakukan pemotongan babi untuk tujuan konsumsi, *vesica urinaria* dari babi selalu dibuang karena dianggap tidak memiliki nilai guna. Telah dilakukan penelitian mengenai ECM yang berasal dari *vesica urinaria* babi oleh Freytes *et al.*, (2008) dan berhasil dibuat dalam bentuk *gel*, serta terbukti mendukung pertumbuhan otot-otot polos pada aorta tikus putih.

METODE PENELITIAN

Objek Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan dengan berat badan $\pm 250-300$ gram dan dengan umur 2-2,5 bulan. Jumlah tikus putih yang digunakan sebanyak 32 ekor, sesuai dengan rumus Federer (1963), dalam Maryanto dan Fatimah (2004).

Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ECM yang berasal dari *vesica urinaria* babi, *xylazine*, *ketamine*, *methanol*, *iodine povidone* 10%, asam perasetat, alkohol 70 %, antibiotik *amoxicillin*, NaCl 0,9% steril, pewarna *Harris-Hematoksin Eosin* (HE), formalin 10%, *aquades*, pakan tikus, dan bahan-bahan lain yang mendukung berjalannya penelitian ini.

Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah 32 kandang tikus individu, botol minum tikus, satu set alat bedah minor steril, alas operasi, *dysposable syringe* 1 ml, kapas, tabung, mikroskop binokuler, gelas objek, *object glass box*, gelas penutup, beker gelas, tabung gelas rendam asam, gelas ukur, dan alat-alat lain yang mendukung berjalannya penelitian ini.

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari 16 ekor tikus putih. Spesimen yang diambil adalah jaringan kulit dan dilanjutkan dengan pewarnaan menggunakan metode HE. Preparat histopatologi diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x dilihat dengan lima lapang pandang mikroskopik dan dicatat perubahan mikroskopis berdasarkan variabel yang diperiksa.

Prosedur Penelitian

Pembuatan serbuk ECM sama dengan metode (Freytes *et al.*, 2008) yang sedikit dimodifikasi, meliputi proses seperti: *vesica urinaria* babi dibersihkan dari sisa otot dan jaringan lemak menggunakan scalpel, lalu dicuci dengan NaCl fisiologis, kemudian dipotong dengan ukuran 1x1 cm yang selanjutnya diblender menjadi bagian halus, selanjutnya direndam di dalam larutan yang mengandung 0,1% asam perasetat, 4% methanol, dan 95,9% aquabides selama 2 jam. Residu asam perasetat kemudian dihilangkan dengan dua kali pencucian NaCl fisiologis, diikuti dengan dua kali pencucian dengan aquabides masing-masing selama 15 menit, kemudian disimpan dalam tabung yang berisi alkohol 70% sampai diaplikasikan.

Penelitian ini menggunakan hewan model tikus putih jantan sebanyak 32 ekor yang memiliki berat badan $\pm 250-300$ gram. Hewan model diadaptasikan terlebih dahulu dengan lingkungan selama satu minggu dan ditempatkan pada kandang individu. Tikus putih diberikan pakan dan air minum secara *ad libitum*. Pada penelitian ini, tikus putih dibedakan menjadi dua kelompok dengan perlakuan yang berbeda. Masing-masing kelompok terdiri dari 16 ekor tikus putih. Kelompok I (KI) yaitu kelompok kontrol, sedangkan kelompok II (KII) yaitu kelompok perlakuan.

Sebelum insisi dilaksanakan, tikus putih dianestesi terlebih dahulu menggunakan kombinasi dari *ketamine* dan *xylazine* secara intramuskular dengan dosis *ketamine* 40-100 mg/kg BB dan dosis *xylazine* 5-10 mg/kgBB. Lalu dilakukan insisi pada punggung tikus putih sepanjang 2 cm dengan kedalaman 0,2 cm sejajar dengan *os. vertebrae* dan berjarak 5 cm dari telinga.

Koleksi sampel penelitian ini dengan cara biopsi. Sebelum dilakukan biopsi kulit, tikus putih dianestesi terlebih dahulu menggunakan kombinasi dari *ketamine* dan *xylazine* secara intramuskular. Biopsi kulit dilakukan setelah operasi dilakukan, yaitu pada hari ke-1, hari ke-5, hari ke-10, dan hari ke-15. Biopsi kulit dilakukan pada 2 ekor tikus putih KI dan 2 ekor tikus putih KII secara acak pada masing-masing hari. Biopsi kulit dilakukan pada kulit punggung yang telah dilukai dan sampel kulit diambil dengan diameter ± 1 cm. Setelah itu, sampel kulit dimasukkan kedalam tabung organ yang telah berisi formalin 10% secukupnya. Sampel diperiksa di Balai Besar Veteriner Denpasar (BBVet Denpasar) untuk dijadikan preparat histopatologi.

Pembuatan sediaan histologis berdasarkan jurnal Suwiti (2010) yaitu sampel berupa kulit yang telah difiksasi dengan formalin 10%, didehidrasi dan berturut-turut dibersihkan dengan satu sesi larutan (3 kali formalin 10%, alkohol 70%, alkohol 96%, 3 kali alkohol absolut, 3 kali xylol, dan 2 kali parafin cair) dalam waktu 23 jam. Sampel kemudian diblok dengan parafin cair, setelah didinginkan selama 30 menit dipotong dengan mikrotom. Sebelum dilakukan *mounting* terlebih dahulu dilakukan pewarnaan dengan metode HE, dengan cara direndam dalam xylol I, II, III masing-masing selama 5 menit. Terakhir direndam dalam alkohol absolut I dan II selama 5 menit.

Sebelum direndam dalam larutan HE (15 menit), dilakukan perendaman dalam aquades selama 1 menit. Sampel kembali direndam dalam aquades (1 menit), kemudian 5-7 menit dalam *acid alcohol* 10%, dua kali dalam aquadest selama 1 menit dan 15 menit. Setelah itu diwarnai dengan eosin. Preparat yang telah diwarnai kemudian direndam dalam 4 kali alkohol 96% masing-masing 3 menit. Selanjutnya dibersihkan dalam xylol I dan xylol II selama 5 menit.

Variabel yang diperiksa pada penelitian ini adalah infiltrasi seluler, produksi kolagen, ketebalan epitel, dan angiogenesis yang dinilai sesuai dengan sistem penilaian yang dijelaskan oleh Karayannopoulou *et al.*, (2011), yaitu: infiltrasi seluler (skor 0 = ≤ 3 sel inflamasi; skor 1 = 4 - 10 sel inflamasi; skor 2 = 11 - 20 sel inflamasi; skor 3 = 21 - 30 sel inflamasi; skor 4 = 31 - 40 sel inflamasi, dan skor 5 = ≥ 41 inflamasi sel), produksi kolagen (skor 0 = normal; skor 1 = peningkatan ringan; skor 2 = peningkatan ringan - sedang; skor 3 = peningkatan moderat; skor 4 = peningkatan sedang - ditandai dan skor 5 = peningkatan nyata), ketebalan epitel (skor 0 = mirip dengan epitel normal; skor 1 = sedikit meningkat; skor 2 = peningkatan sedang; dan skor 3 = peningkatan nyata), dan angiogenesis (skor 0 =

tidak ditemukan pembuluh baru; 1 = 1 - 10 pembuluh baru; 2 = 11 - 30 pembuluh baru dan skor 3 = \geq 31 pembuluh baru).

HASIL DAN PEMBAHASAN

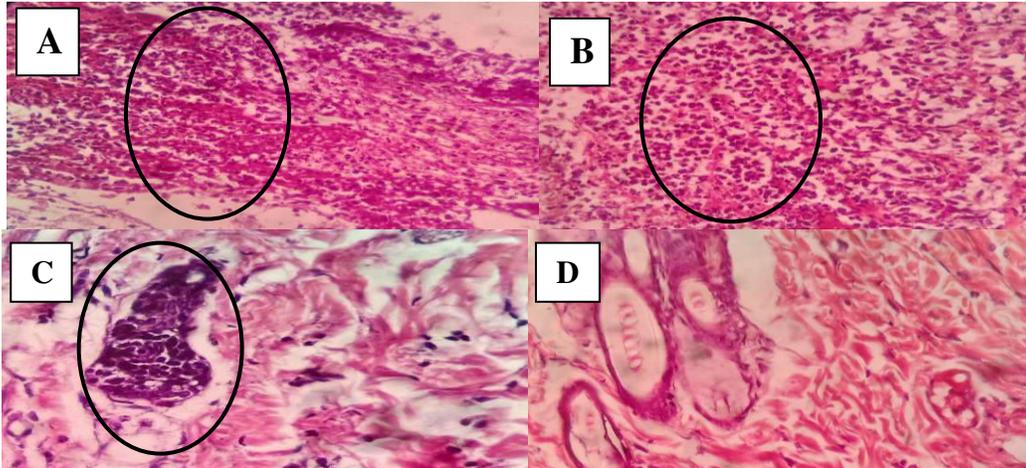
Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ECM dapat mempercepat proses kesembuhan pada luka insisi tikus putih dilihat dari perubahan histopatologi infiltrasi seluler, produksi kolagen, ketebalan epitel, dan angiogenesis pada hari ke-1 hingga hari ke-15 setelah proses insisi. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan sel inflamasi tidak ditemukan pada semenjak hari ke-10, dan ke-15, sedangkan pada kelompok kontrol sel inflamasi tidak ditemukan baru pada hari ke-15. Produksi kolagen yang ditemukan pada waktu pemeriksaan hari ke-1, ke-5, ke-10, dan ke-15 berangsur meningkat hingga terlihat peningkatan kolagen yang ringan hingga nyata (Gambar 1,2,3,4,5,6,7, dan 8).

Produksi kolagen pada kelompok perlakuan lebih cepat dibandingkan dengan kelompok kontrol. Ketebalan epitel yang diamati pada waktu pemeriksaan hari ke-1, ke-5, ke-10, dan ke-15 berangsur meningkat hingga terlihat peningkatan ketebalan epitel yang nyata pada kelompok perlakuan, sedangkan pada kelompok kontrol hanya peningkatan sedang ketebalan epitel. Pembuluh darah baru yang diamati pada waktu pemeriksaan hari ke-1, ke-5, ke-10, dan ke-15 berangsur meningkat jumlahnya. Perbandingan dapat dilihat bahwa pembuluh darah baru yang ditemukan pada kelompok perlakuan berangsur meningkat dengan jumlah yang lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol (Gambar 1,2,3,4,5,6,7, dan 8).

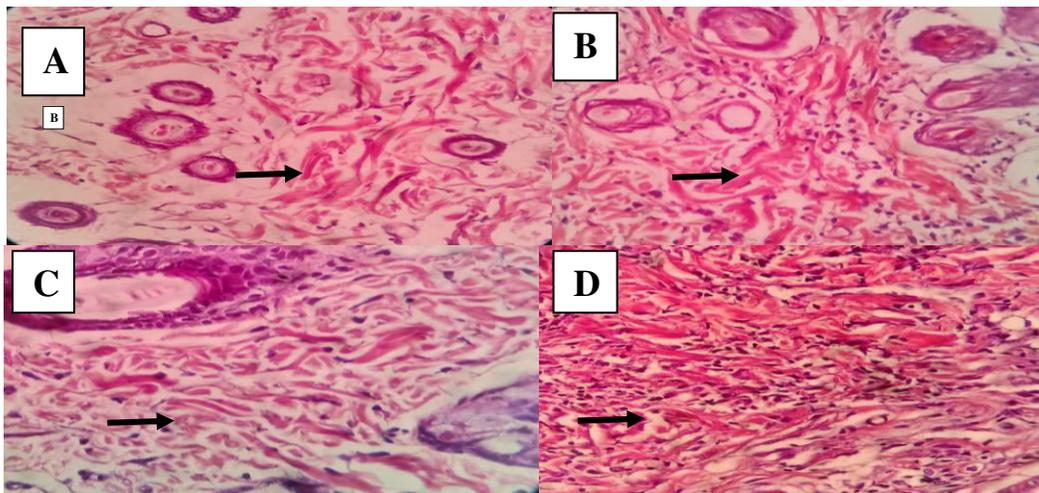
Secara teori infiltrasi sel-sel radang yang ditemukan pada proses kesembuhan luka semakin lama semakin menurun. Banyaknya produk radang yang ditemukan menandakan tingkat peradangan yang dialami (Agustin *et al.*, 2016). Semakin cepat berkurangnya produk radang, semakin cepat proses kesembuhannya.

Secara teori untuk proses kesembuhan, produksi kolagen yang terlihat semakin tinggi karena kolagen berperan dalam memperbaiki jaringan yang rusak atau hilang. Fibroblas akan mengalami beberapa perubahan fenotip dan menjadi myofibroblas yang berfungsi untuk retraksi luka (Prasetyo *et al.*, 2010). Fibroblas berperan dalam sekresi ECM dan kolagen. Kolagen

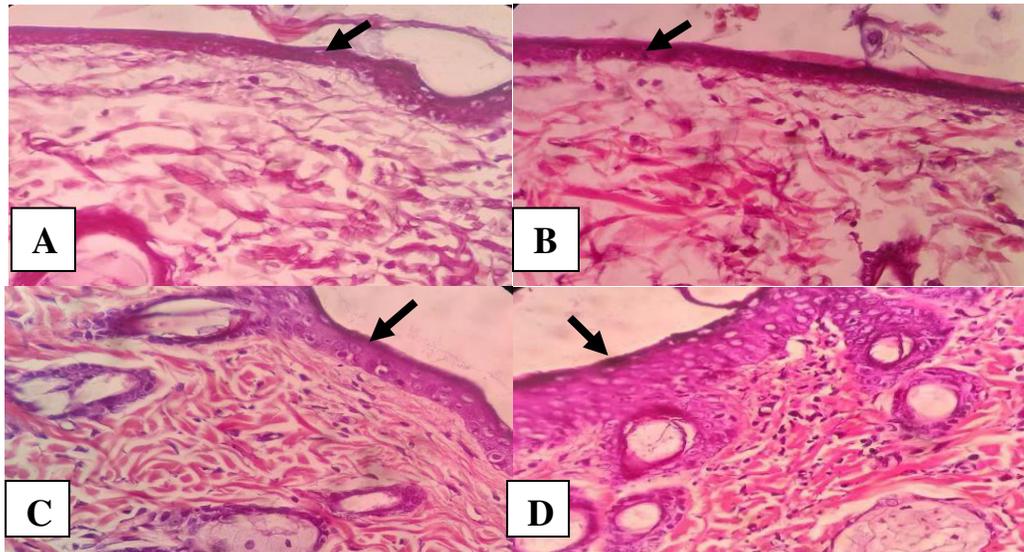
merupakan komponen protein utama pada ECM, maka pemberian ECM sangat mempengaruhi jumlah kolagen yang dapat mempercepat proses kesembuhan luka.



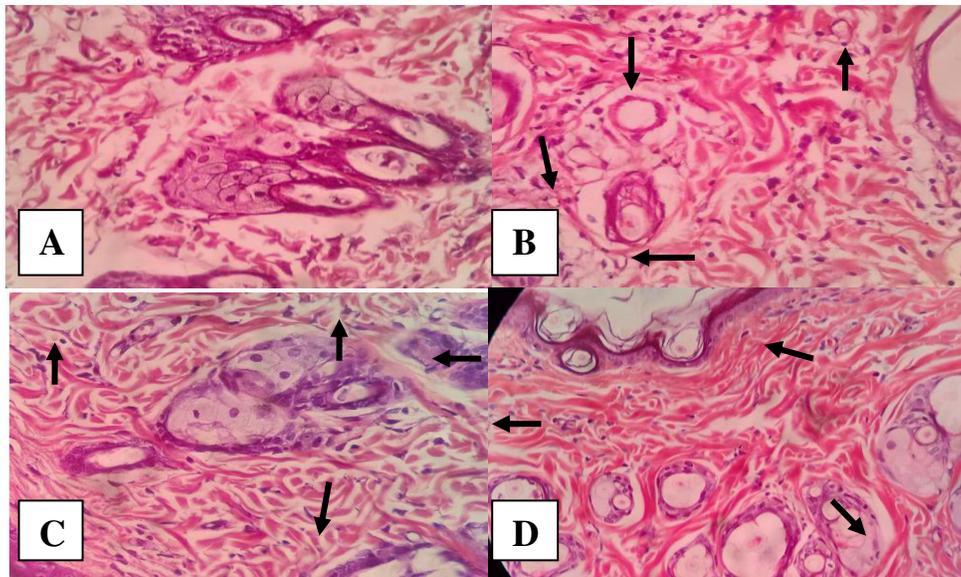
Gambar 1. Gambaran histopatologi kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*) kelompok kontrol ke-1, (HE, 400X). Pengamatan histopatologi pada hari ke-1 (A), hari ke-5 (B), hari ke-10 (C), dan tidak ditemukan sel radang pada hari ke-15 (D). Terlihat adanya infiltrasi sel-sel radang (1). Lingkaran menunjukkan infiltrasi sel-sel radang.



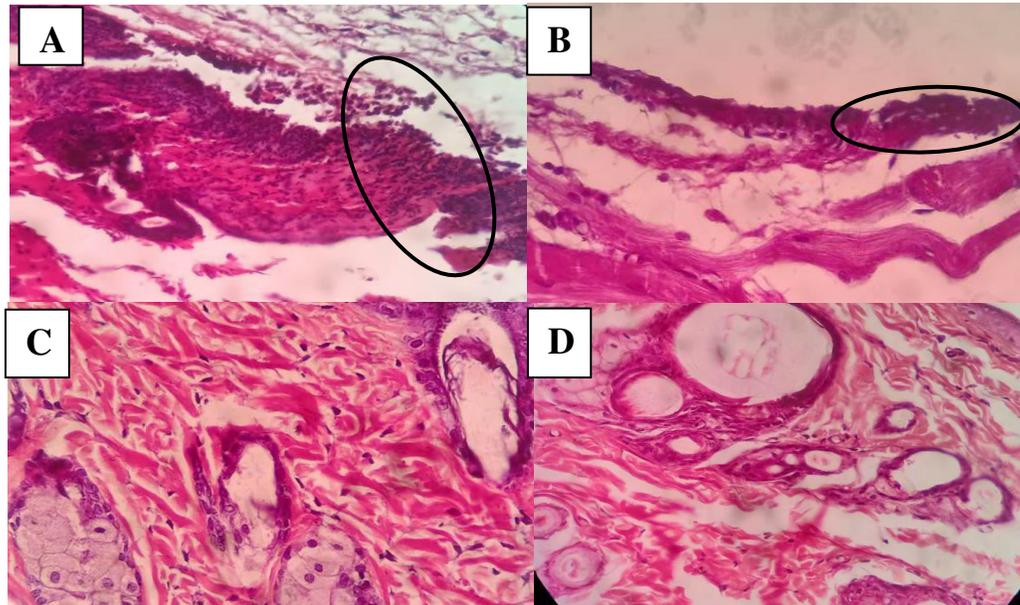
Gambar 2. Gambaran histopatologi kulit tikus putih kelompok kontrol ke-1, (HE, 400X). Terlihat kolagen normal pada hari ke-1(A), peningkatan ringan kolagen pada hari ke-5 (B), peningkatan ringan kolagen pada hari ke-10 (C), dan peningkatan ringan hingga sedang kolagen pada hari ke-15 (D). Tanda panah menunjukkan produksi kolagen.



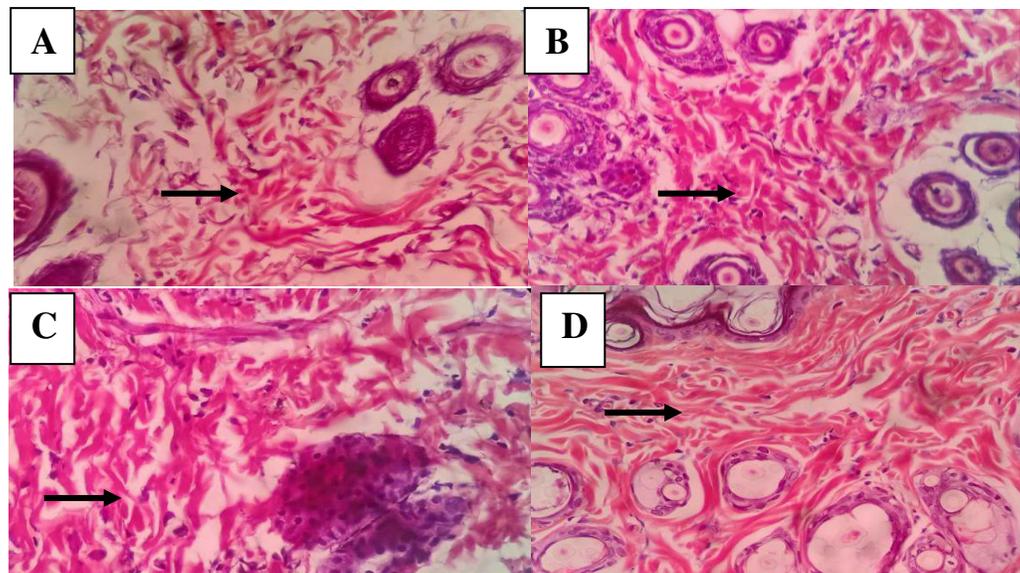
Gambar 3. Gambaran histopatologi kulit tikus putih kelompok kontrol ke-1, (HE, 400X). Terlihat sedikit peningkatan ketebalan epitel pada hari ke-1 (A), sedikit peningkatan ketebalan epitel pada hari ke-5 (B), sedikit peningkatan ketebalan epitel pada hari ke-10 (C), dan peningkatan sedang ketebalan epitel pada hari ke-15 (D). Tanda panah menunjukkan peningkatan ketebalan epitel.



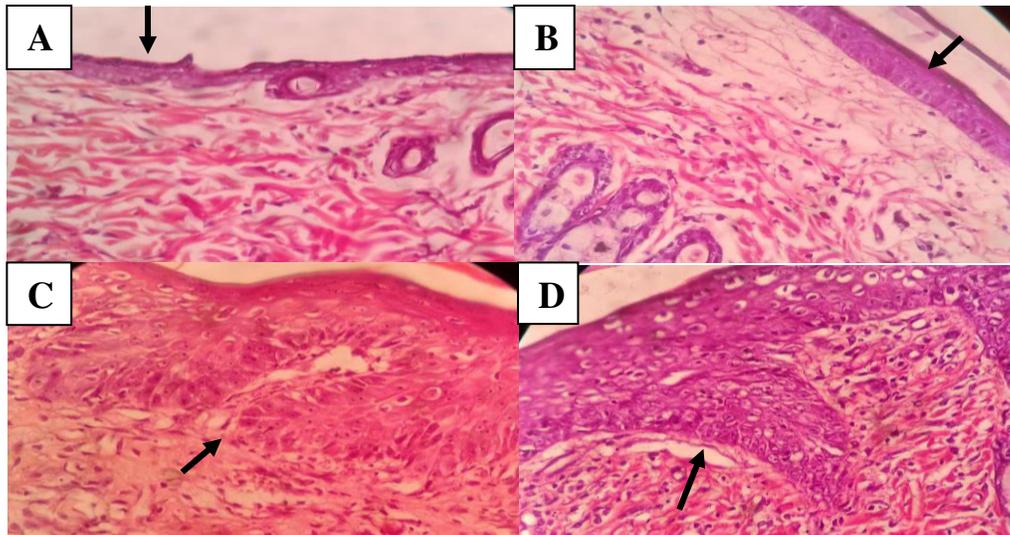
Gambar 4. Gambaran histopatologi kulit tikus putih kelompok kontrol ke-1, (HE, 400X). Tidak terlihat adanya pembuluh baru pada hari ke-1 (A), ditemukannya 4 pembuluh baru pada hari ke-5 (B), ditemukannya 3 pembuluh baru pada hari ke-10 (C), dan ditemukannya 4 pembuluh baru pada hari ke-15 (D). Tanda panah menunjukkan pembuluh darah baru yang ditemukan.



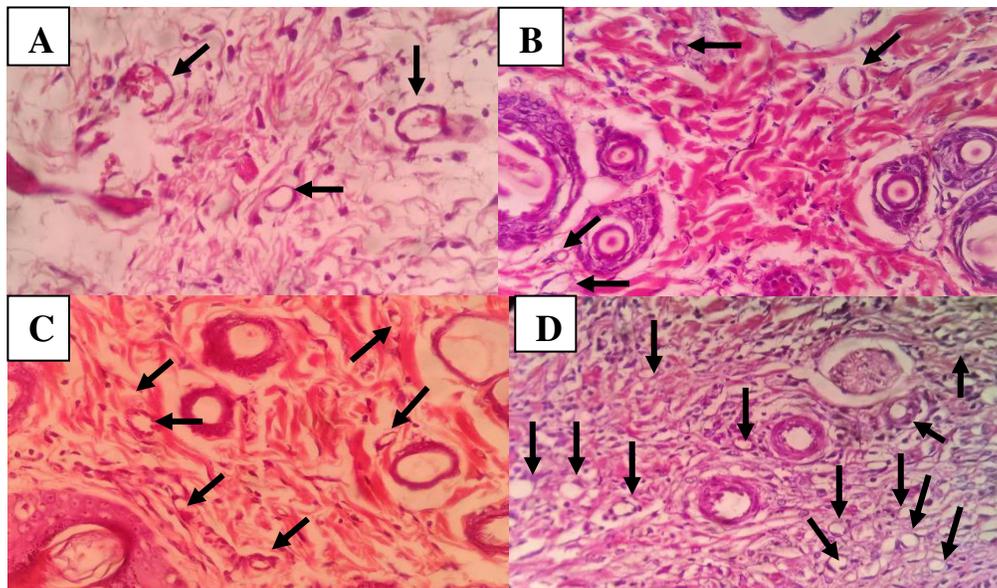
Gambar 5. Gambaran histopatologi kulit tikus putih kelompok perlakuan ke-1, (HE, 400X). Pengamatan histopatologi pada hari ke-1 (A), hari ke-5 (B), tidak ditemukan sel radang pada hari ke-10 (C) dan hari ke-15 (D). Terlihat adanya infiltrasi sel-sel radang (1). Lingkaran menunjukkan infiltrasi sel-sel radang.



Gambar 6. Gambaran histopatologi kulit tikus putih kelompok perlakuan ke-1, (HE, 400X). Terlihat peningkatan ringan kolagen pada hari ke-1(A), peningkatan ringan hingga sedang kolagen pada hari ke-5 (B), peningkatan ringan hingga sedang kolagen pada hari ke-10 (C), dan peningkatan ringan hingga sedang kolagen pada hari ke-15 (D). Tanda panah menunjukkan produksi kolagen.



Gambar 7. Gambaran histopatologi kulit tikus putih kelompok perlakuan ke-1, (HE, 400X). Terlihat sedikit peningkatan ketebalan epitel pada hari ke-1 (A), sedikit peningkatan ketebalan epitel pada hari ke-5 (B), peningkatan ketebalan nyata epitel pada hari ke-10 (C), dan peningkatan ketebalan nyata epitel pada hari ke-15 (D). Tanda panah menunjukkan peningkatan ketebalan epitel.



Gambar 8. Gambaran histopatologi kulit tikus putih kelompok perlakuan ke-1, (HE, 400X). Terlihat adanya 3 pembuluh baru pada hari ke-1 (A), ditemukannya 4 pembuluh baru pada hari ke-5 (B), ditemukannya 6 pembuluh baru pada hari ke-10 (C), dan ditemukannya 4 pembuluh baru pada hari ke-15 (D). Tanda panah menunjukkan pembuluh darah baru yang ditemukan.

Penyembuhan luka sangat dipengaruhi oleh re-epitelisasi, karena semakin cepat proses re-epitelisasi, semakin cepat pula luka tertutup sehingga semakin cepat penyembuhan luka. Re-epitelisasi terjadi karena proses mobilisasi, migrasi, mitosis, dan diferensiasi sel epitel. Semakin tebal epitel, semakin cepat proses re-epitelisasi sehingga semakin cepat pula proses kesembuhan luka (Prasetyo *et al.*, 2010).

Angiogenesis atau terbentuknya pembuluh darah baru terjadi akibat pembuluh darah yang sudah ada mengeluarkan kuncup dan tunas pembuluh darah baru (Riana, 2011). Pembuluh darah memiliki peranan yang penting dalam perbaikan jaringan untuk memberikan asupan nutrisi bagi jaringan yang sedang beregenerasi (Prasetyo *et al.*, 2010). Semakin banyak ditemukannya pembuluh darah baru semakin cepat perbaikan jaringan sehingga proses kesembuhan semakin cepat.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa pemberian bahan ECM yang berasal dari *vesica urinaria* babi terbukti dapat mempercepat proses kesembuhan luka insisi pada kulit tikus putih yang dilihat secara mikroskopis yaitu dari histopatologi infiltrasi seluler, produksi kolagen, ketebalan epitel, dan angiogenesis.

SARAN

Dengan adanya penelitian ini yang terbukti bahwa ECM yang berasal dari *vesica urinaria* babi dapat mempercepat proses kesembuhan luka pada kulit, maka disarankan kepada dokter hewan untuk memberikan ECM kepada pasien yang mengalami luka kasus maupun luka operasi. Disarankan juga untuk tidak membuang organ *vesica urinaria* saat babi dipotong untuk dikonsumsi karena dapat dijadikan sesuatu yang lebih berguna, yaitu ECM.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Rumah Sakit Hewan Pendidikan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Laboratorium Histopatologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana dan Balai Besar Veteriner Denpasar yang telah memfasilitasi penelitian ini, serta semua pihak yang dengan keahliannya membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurrahmat AS. 2014. Luka, Peradangan dan Pemulihan. *Jurnal Entropi*. 9(1): 729-738
- Agarwal P, Zwolanek D, Keene DR, Schulz JN, Blumbach K, Heinegård D, Paulsson FZM, Krieg T, Koch M, Eckes B. 2012. *Collagen XII and XIV - New Partners of Cartilage Oligomeric Matrix Protein in the Skin Extracellular Matrix Suprastructure*. Germany: JBC Papers in Press.
- Agustin R, Dewi N, dan Rahardja SD. 2016. Efektivitas Ekstrak Ikan Haruan (*Channa striata*) dan Ibuprofen Terhadap Jumlah Sel Neutrofil pada Proses Penyembuhan Luka. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*. 1(1): 68-74
- Atik N, Iwan AR, Januarsih. 2009. Perbedaan Efek Pemberian Topikal Gel Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) Dengan Solusio Povidone Iodine Terhadap Penyembuhan Luka Sayat Pada Kulit Mencit (*Mus musculus*). *Majalah Kedokteran Bandung*. 41(2): 1-7
- Badylak SF, Freytes DO, Gilbert TW. 2009. Extracellular Matrix as a Biological Scaffold Material: Structure and function. *Acta Biomaterialia*. 5: 1-13.
- Freytes DO, Martin J, Velankar SS, Lee AS, Badylak SF. 2008. Preparation and Rheological Characterization of a Gel Form of the Porcine Urinary Bladder Matrix. *Biomaterials* 29 : 1630- 1637
- Karayannopoulou MV, Tsioli P, Loukopoulos T, Anagnostou N, Giannakas I, Savvas L, Papazoglou E, Kaldrymidou. 2011. Evaluation of the Effectiveness of an Ointment Based on Alkannins/ Shikonins on Second Intention Wound Healing in the Dog. *The Canadian Journal of Vet. Res.* 75: 42-48.
- Krieg T, dan Aumailley M. 2011. The Extracellular Matrix of the Dermis: Flexible Structures with Dynamic Functions. Germany: *Experimental Dermatology* 20 : 689-695.
- Maryanto dan Fatimah. 2004. *Metodologi Penelitian*. Mataram: Yayasan Cerdas press
- Prasetyo BF, Wientarsih I, Priosoeryanto BP. 2010. Aktivitas Sediaan Gel Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon dalam Proses Penyembuhan Luka pada Mencit. *Jurnal Veteriner*. 11 (2): 70-73.
- Riana R. 2011. Peran Heparin dalam Angiogenesis, Epitelialisasi dan Penyembuhan Luka Bakar. *Lab. Ilmu Bedah Pada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang*. 7(14): 127-132
- Rodero MP, dan Khosrotehrani K. 2010. Skin Wound Healing Modulation by Macrophages. *Int J Cli Exp Pathol*. 3(7): 643-653.
- Suwiti NK. 2010. Deteksi Histologik Kesembuhan Luka pada Kulit Pasca pemberian Daun Mengkudu (*Morinda Citrifolia Linn*). *Buletin Veteriner Udayana*. 2(1) :1-9