

## Potensi Salep *Epigallocatechin gallate* terhadap Proses Kesembuhan Luka Bakar Derajat II pada Kulit Tikus Putih

(THE POTENTIAL OF EPIGALLOECATECHIN GALLATE OINTMENT TO THE WOUND HEALING PROCESS OF SECOND DEGREE SKIN BURNS ON THE ALBINO RATS)

Wiwik Misaco Yuniarti, Bambang Sektari Lukiswanto

Departmen Klinik Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga  
Jl. Mulyorejo, Kampus C Unair, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60115.  
Email: [wiwikmisaco@yahoo.com](mailto:wiwikmisaco@yahoo.com); [bamsekti@yahoo.com](mailto:bamsekti@yahoo.com)

### ABSTRAK

Luka bakar adalah salah satu masalah kesehatan dalam masyarakat modern yang terkait dengan kerusakan jaringan yang sulit untuk diperbaiki dan mempengaruhi penderita, baik dari segi fisik maupun psikis. Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi potensi pemberian salep *epigallocatechin gallate* (EGCG) terhadap proses kesembuhan luka bakar derajat 2 pada kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*). Dua puluh lima tikus putih dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Kelompok P0 adalah kelompok tikus yang mengalami luka bakar derajat II yang dilakukan dengan menempelkan plat berdiameter 1 cm dengan panas 85°C selama 5 detik dan diberi terapi dengan basis ointment. Kelompok P1 adalah kelompok tikus yang mengalami luka bakar dan diberi terapi standar dengan *silver sulfadiazine*. Kelompok P2, P3 dan P4 adalah kelompok tikus yang mengalami luka bakar dan diterapi masing-masing dengan salep EGCG dengan konsentrasi 1%, 2%, dan 4%. Pada akhir penelitian, dilakukan eksisi jaringan kulit untuk pembuatan preparat histopatologis menggunakan pewarnaan HE. Evaluasi preparat histopatologi dilakukan terhadap deposisi kolagen, infiltrasi PMN, angiogenesis dan re-epitelisasi. Hasil penelitian pada kelompok P4, tampak proses re-epitelisasi dan pembentukan kolagen tertinggi yang disertai dengan penurunan yang nyata pada proses inflamasi dan angiogenesis. Kondisi ini berbeda nyata dengan kelompok P0, P1, P2, dan P3. Penyembuhan luka bakar derajat II dengan 4% EGCG lebih baik daripada kelompok perlakuan yang lain. Hal ini diduga karena senyawa yang terkandung di dalamnya memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi dan antibakterial. Ketiga aktivitas yang dimiliki tersebut akan bersinergi dalam proses kesembuhan luka. Pemberian salep EGCG 4% selama 14 hari pada luka bakar derajat II dapat mempercepat proses kesembuhan luka yang ditandai dengan perbaikan re-epitelisasi, deposisi kolagen, infiltrasi PMN pada area luka, dan angiogenesis.

Key words: EGCG; luka bakar derajat II; proses kesembuhan luka; tikus putih

### ABSTRACT

Burns are one of the health problems in modern society that are associated with tissue damage that is difficult to repair and affect patients, both physically and psychologically. This study was conducted to evaluate the potential of epigallocatechin gallate (EGCG) ointment to the healing process of second degree skin burn induced by attaching 85°C plate with 1 cm of diameter for 5 second on the skin of albino rat (*Rattus norvegicus*). Twenty-five rats were divided into 5 treatment groups. The P0 group was a group of rat that suffered burns and were treated with ointment base (PEG). The P1 group was a group of rat that suffered burns and were given standard therapy with silver sulfadiazine. P2, P3 and P4 groups are groups of rat that have burns and are treated with EGCG ointments with concentrations of 1%, 2%, and 4% respectively. At the end of the study, skin tissue excision was carried out to make histopathological preparations using HE staining. Evaluation of histopathological preparations was carried out on reepithelialization collagen deposition, PMN infiltration, and angiogenesis. The results of the study in group P4 showed that the highest collagen formation and re-epithelialization process was accompanied by a marked decrease in the inflammatory process and angiogenesis. This condition is significantly different from groups P0, P1, P2, and P3. Healing second degree burns with 4% EGCG is better than other treatment

groups. This is presumably because the compounds contained therein have antioxidant activity, anti-inflammatory and antibacterial. These three activities will synergize in the process of healing wounds. Provision of 4% EGCG ointment for 14 days in second degree burns can accelerate the wound healing process which is characterized by improved re-epithelialization, collagen deposition, PMN infiltration in the wound area, and angiogenesis.

Key words: EGCG; second degree burns; wound healing process; albino rats

## PENDAHULUAN

Proses kesembuhan luka bakar merupakan fenomena kompleks untuk mengembalikan kontinuitas jaringan dan fungsinya. Kesembuhan luka melibatkan beberapa fase yang berbeda dan saling tumpang tindih, yaitu fase inflamasi, granulasi, fibrogenesis, neo-vaskularisasi, kontraksi luka dan epithelialisasi (Robson, 1997). Penatalaksanaan luka bakar yang efektif memerlukan pemahaman proses kesembuhan luka normal dan mampu memilih intervensi yang tepat untuk mengoptimalkan proses kesembuhan luka (Snyder, 2005).

Pada proses kesembuhan luka, inflamasi terjadi segera setelah jejas, diawali dengan vasokonstriksi yang berperan dalam proses hemostasis dan pelepasan mediator inflamasi. Fase proliferasi ditandai dengan terbentuknya jaringan granulasi oleh fibroblas dan proses angiogenesis. Reformulasi dan perbaikan kompartemen serabut kolagen yang disertai dengan peningkatan *tensile strength* menandai fase remodeling (Varoglu *et al.*, 2010). Faktor yang memiliki peran penting pada tertundanya proses kesembuhan luka antara lain, trauma berulang, perfusi dan oksigenasi yang buruk serta inflamasi yang berlebihan (Harding *et al.*, 2003)).

Penggunaan bahan alamiah untuk pengobatan luka merupakan bagian penting dari penatalaksanaan kesehatan dan metode baik untuk menyediakan pilihan layanan kesehatan yang murah dan efektif (Gurung *et al.*, 2009; Suntar *et al.*, 2010). Beberapa penelitian menggunakan polifenol yang berasal dari teh hijau sebagai penyembuh alami sebagai agen anti penuaan, antiinflamasi, antikanker, antioksidan dan antidiabetes (Obaid *et al.*, 2011).

Beberapa penelitian dengan menggunakan *Epigallocatechin gallate* (EGCG), sebagai salah satu polifenol yang terkandung dalam

teh hijau, membuktikan sejumlah efek biologis EGCG sebagai antioksidan, antimikrob, antiinflamasi, antialergi dan antineoplastik yang aktif (Hosnuter *et al.*, 2015). Teh hijau memiliki manfaat yang beragam, antara lain mencegah kanker, meningkatkan kesehatan jantung dan pembuluh darah, melindungi kulit dari kerusakan yang disebabkan karena radiasi dan penyebab yang lain. Manfaat ini disebabkan karena teh hijau yang mengandung EGCG memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi dan antibakteri yang cukup kuat. Berdasarkan hal tersebut, tidak menutup kemungkinan bahwa EGCG dapat membantu percepatan proses kesembuhan luka bakar pada kulit (Nagle *et al.*, 2006).

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilaksanakan untuk melihat pengaruh pemberian salep EGCG terhadap proses kesembuhan luka bakar pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan.

## METODE PENELITIAN

### Kelayakan Etik

Penelitian ini dilaksanakan setelah mendapatkan persetujuan dari komisi etik Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga.

### Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hewan Percobaan di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya. Persiapan dan pembuatan salep dilakukan di Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga. Pembuatan dan pemeriksaan preparat histopatologis dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga.

### Hewan Eksperimental

Sebanyak 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, umur tiga bulan dengan

berat badan 150-180 gram digunakan dalam penelitian ini. Tikus diberi pakan komersial dan air minum secara *ad libitum*.

### Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah bubuk EGCG dan polietilen glikol. Pembuatan preparat histopatologi membutuhkan alkohol 70%, 80%, 90% dan 96%, *buffer* formalin 10%, *Hematoxylin Eosin*, *Xylol*, entellan dan parafin. Agen anesthesia yang digunakan pada penelitian ini adalah Ketamine dan Xylazine.

Pada penelitian ini, tikus-tikus percobaan ditempatkan dalam kandang dengan penutup kandang dari kawat, dan dilengkapi dengan tempat pakan, botol air minum dan alas kandang berupa sekam. Kandang terbuat dari plastik yang dipisahkan menjadi dua bagian dengan pelat logam, sehingga tiap kandang hanya dihuni dua ekor tikus dalam kondisi terpisah. Perawatan luka secara topikal pada tikus dibantu dengan *cotton buds* steril.

Peralatan lain yang diperlukan adalah pencukur bulu, alat untuk membuat luka bakar dengan prinsip termostat termodifikasi, sarung tangan isolator, sarung tangan steril, dan spuit 3 ml. Pada akhir penelitian, untuk eksisi kulit dibutuhkan pisau bedah, pinset, gunting dan pot plastik. Pembuatan preparat histopatologi memerlukan serangkaian alat untuk dehidrasi, mikrotom untuk memotong jaringan, *hot plate*, kaca objek dan kaca penutup serta pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*. Preparat diamati dengan mikroskop Nikon® Eclipse H600L dan foto preparat menggunakan kamera digital DS Fi2 300 megapiksel.

Formulasi standar pembuatan salep adalah mencampur *polyethylene glycol* (PEG) dengan EGCG. Formulasi salep EGCG 1%, 2% dan 4% berturut-turut adalah mencampurkan EGCG dengan PEG dengan perbandingan 0,4 g : 39,6 g; 0,8 g : 39,2 g; dan 1,6 g : 38,4 g.

### Pelaksanaan Penelitian

Tikus diadaptasi di laboratorium selama seminggu sebelum pelaksanaan penelitian. Setelah itu, dilakukan pengelompokan secara acak menjadi lima kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari lima ekor tikus, yaitu kelompok P0, P1, P2, P3 dan P4.

- P0 : Tikus putih dengan luka bakar, diobati dengan basis *ointment* (PEG).
- P1 : Tikus putih dengan luka bakar, diobati dengan salep Perak Sulfadiazine 1%
- P2 : Tikus putih dengan luka bakar, diobati dengan salep EGCG 1%
- P3 : Tikus putih dengan luka bakar, diobati dengan salep EGCG 2%
- P4 : Tikus putih dengan luka bakar, diobati dengan salep EGCG 4%

Tikus penelitian dianesthesi menggunakan kombinasi Ketamin dan Xylazine dengan dosis Ketamine 100 mg/kg dan Xylazine 5 mg/kg diberikan secara intra muskuler (Ghosh and Gaba, 2013). Setelah tikus dianesthesi, rambut pada area gluteal dicukur bersih. Luka bakar derajat IIB merupakan luka bakar yang menyebabkan kerusakan pada lapisan epidermis hingga lapisan dermis. Luka ditandai dengan terbentuknya warna putih yang tidak memucat, terbentuk bula dan kering. Luka bakar tingkat dua yang dalam dibuat pada kulit di atas area gluteal kanan tikus dengan menempelkan alat termostat yang telah dimodifikasi dengan pelat baja tahan karat berbentuk bulat dengan diameter 1 cm (Pirbalouti *et al.*, 2010; Lansky dan Newman, 2012; Yuniarti, 2012), selama 5 detik dengan suhu 85°C (Pirbalouti *et al.*, 2010), dengan toleransi rata-rata 85 ± 5°C

Perawatan luka dilakukan dengan pemberian salep secara topikal sesuai dengan kelompok perlakuan, dua kali sehari selama 14 hari. Pemberian obat dimulai tepat setelah prosedur pembuatan luka akar dilakukan.

Seluruh tikus dikorbankan nyawanya dengan dislokasi cervical dan dilakukan eksisi kulit pada hari ke-15. Eksisi kulit dilakukan sekitar 1,5 cm x 1,5 cm di sekitar luka, dengan kedalaman dan ketebalan penuh. Sampel kulit difiksasi dalam 10% *buffer* formalin untuk pembuatan preparat histopatologi dengan pewarnaan Haematoksilin-Eosin.

Kriteria penilaian sediaan histopatologis adalah sebagai berikut: kolagen: tidak ada: skor = 0, jumlah rendah: skor = 1, jumlah sedang: skor = 2, jumlah tinggi: skor = 3; **jumlah *polymorphonuclear* (PMN)**: tidak ada: skor = 0, jumlah rendah: skor = 1, jumlah sedang: skor = 2, jumlah tinggi: skor = 3;

**derajat angiogenesis:** tidak ada: skor = 0, kurang dari 5 vena: skor = 1, 6-10 vena: skor = 2, lebih dari 10 vena: skor = 3; dan **re-epitelisasi**, tidak ada: skor = 0, parsial: skor = 1, lengkap tetapi dengan epitel belum matang: skor = 2, lengkap dengan epitelium matang: skor = 3 (Alizadeh *et al.*, 2011; Murty *et al.*, 2013).

Analisis data dilakukan dengan Kruskal Wallis dan jika ada perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan Mann-Whitney.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, evaluasi dilakukan terhadap gambaran mikroskopis dan *scoring* terhadap reepitelisasi, kolagen, PMN, dan angiogenesis pada masing-masing perlakuan pada hari ke-15 (Gambar 1).

Pada hari ke-15, teramati gambaran histopatologi yang beragam pada semua kelompok perlakuan. Pada P0 teramati proses re-epitelisasi dan pembentukan kolagen yang paling rendah jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain. Pada kelompok P0 terdapat proses inflamasi dan angiogenesis yang paling tinggi jika dibandingkan dengan kelompok yang lain ( $p < 0,05$ ). Pola yang hampir sama terlihat pada kelompok P1 dan P3. Pada kedua kelompok tersebut terlihat proses re-epitelisasi dan pembentukan kolagen yang sudah relatif tinggi disertai dengan penurunan proses inflamasi dan angiogenesis yang berbeda nyata dengan kelompok P0 ( $p < 0,05$ ). Pada kelompok P2 juga sudah mulai menunjukkan peningkatan proses re-epitelisasi dan pembentukan kolagen, tetapi inflamasi dan angiogenesis masih tinggi walaupun kondisi ini berbeda nyata dengan P0 ( $p < 0,05$ ). Perbedaan yang nyata dengan

kelompok yang lain tampak pada P4 ( $p < 0,05$ ). Pada kelompok P4, tampak proses re-epitelisasi dan pembentukan kolagen tertinggi yang disertai dengan penurunan yang nyata pada proses inflamasi dan angiogenesis (Tabel 1).

Penyembuhan dan perbaikan jaringan pada luka bakar dianggap sebagai proses kompleks yang melibatkan proses inflamasi, pembentukan jaringan granulasi dan perbaikan jaringan. Stres oksidatif memainkan peran penting dalam keterlambatan penyembuhan luka bakar dan berkontribusi pada hasil penyembuhan yang tidak baik (Akbari *et al.*, 2015).

Pengobatan dengan antiinflamasi, antioksidan, dan antibakterial dapat memperkuat mekanisme pertahanan antioksidan seluler, dapat mengurangi kerusakan jaringan yang diperantarai oleh radikal bebas, sehingga dapat meminimalkan kerusakan jaringan selama proses kesembuhan luka bakar dan dapat mempercepat proses penyembuhan luka (Parihar *et al.*, 2008).

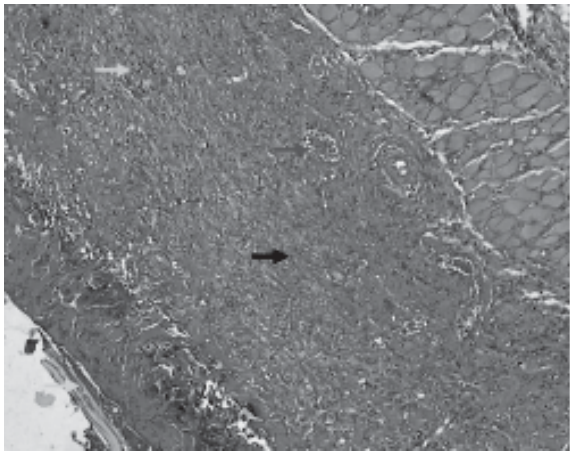
*Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) adalah senyawa polifenol utama teh hijau dan diduga dapat berkontribusi dalam proses perbaikan luka bakar dan bekas luka (Zhen *et al.*, 2006; Yamabe *et al.*, 2006). *Epigallocatechin-3-gallate* memiliki efek potensial pada kontraksi luka selama proses kesembuhan luka. *Epigallocatechin-3-gallate* menghambat faktor-k $\alpha$  dan aktivator protein 1 dalam fibroblas kulit. Selain itu, EGCG memiliki aktivitas memodifikasi pensinyalan *transforming growth factor*  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) yang menekan reseptor TGF- $\beta$ . Hal ini akan mengurangi ekspresi *matrix metalloproteinase-2* (MMP-2) dan MMP-1. *Matrix metalloproteinase-2* adalah enzim yang berfungsi mendegradasi matriks ekstraseluler, dan peningkatan-nya berhubungan dengan

Tabel 1. Perbandingan proses kesembuhan luka pada kelompok perlakuan

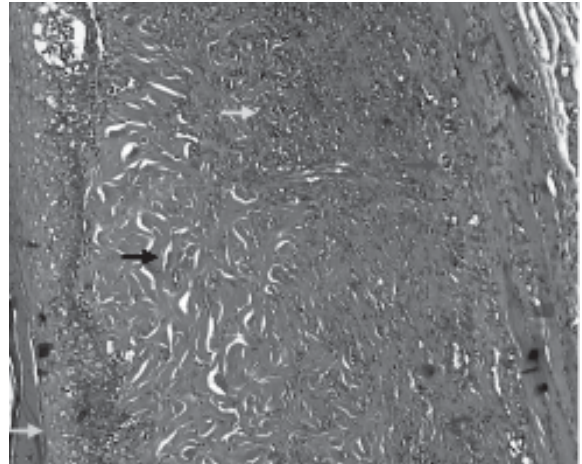
Perlakuan	Reepitelisasi	Kolagen	Inflamasi	Angiogenesis
P0	0,30 <sup>a</sup> ± 0,00	1,00 <sup>a</sup> ± 0,00	3,00 <sup>c</sup> ± 0,00	2,10 <sup>c</sup> ± 0,45
P1	2,50 <sup>c</sup> ± 0,15	2,50 <sup>c</sup> ± 0,00	1,00 <sup>a</sup> ± 0,50	1,20 <sup>b</sup> ± 0,00
P2	2,00 <sup>b</sup> ± 0,00	1,50 <sup>b</sup> ± 0,10	2,20 <sup>b</sup> ± 0,50	2,00 <sup>c</sup> ± 0,45
P3	2,50 <sup>c</sup> ± 0,20	2,50 <sup>c</sup> ± 0,10	1,10 <sup>a</sup> ± 0,30	1,10 <sup>b</sup> ± 0,25
P4	3,00 <sup>d</sup> ± 0,00	3,00 <sup>d</sup> ± 0,00	1,00 <sup>a</sup> ± 0,10	0,50 <sup>a</sup> ± 0,00

Keterangan: Nilai skoring disajikan dalam bentuk rata-rata ± simpangan baku.

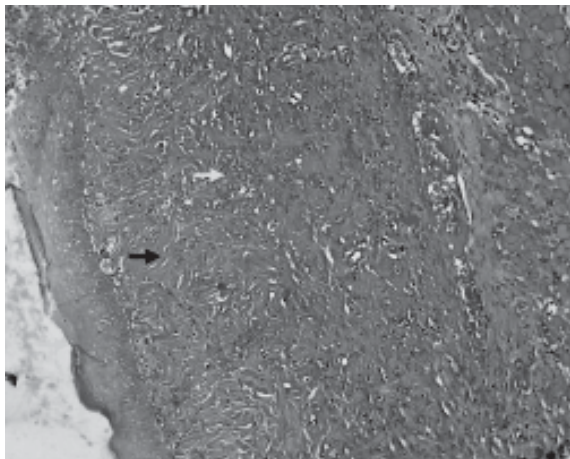
Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan  $p < 0,05$ .



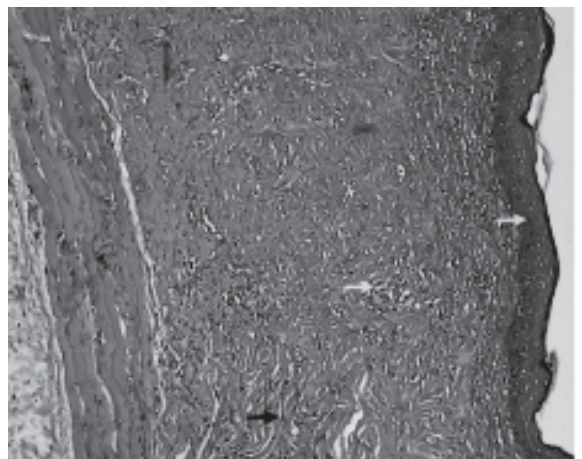
P0 – Reepitelisasi rendah (→), Kolagen rendah (→), PMN tinggi (→), Angiogenesis antara 6-10 vena (→)



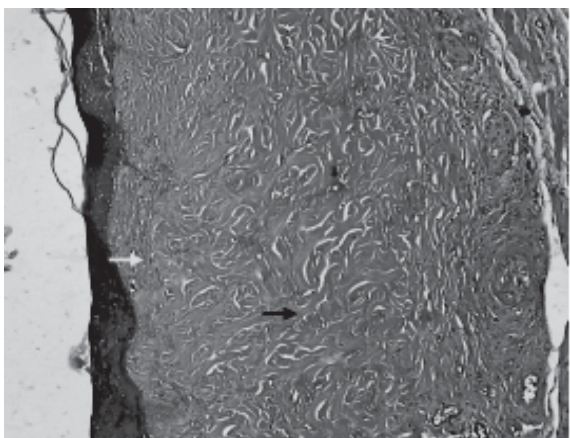
P1 – Reepitelisasi lengkap tetapi tidak matang (→), Kolagen sedang (→), PMN sedang (→), Angiogenesis < 5 vena (→)



P2 – Reepitelisasi lengkap tetapi tidak matang (→), Kolagen sedang (→), PMN sedang (→), Angiogenesis < 5 vena (→)



P3 – Reepitelisasi lengkap tetapi tidak matang (→), Kolagen sedang (→), PMN rendah (→), Angiogenesis < 5 vena (→)



P4 – Reepitelisasi lengkap dan matang (→), Kolagen banyak (→), Infiltrasi PMN rendah (→), Angiogenesis sangat sedikit (→)

Gambar 1. Gambaran histopatologi kulit tikus pada masing-masing perlakuan pada hari ke-15

gangguan proses penyembuhan luka. *Epigallocatechin-3-gallate* dapat menurunkan regulasi sintesis kolagen tipe-1. Semua mekanisme ini menjadikan EGCG sebagai faktor anti-jaringan parut yang potensial pada proses kesembuhan luka, termasuk luka bakar (Klass *et al.*, 2010). *Epicatechin*, *Epicatechin gallate*, *Epigallocatechin*, dan *Epigallocatechin gallate* adalah senyawa kunci yang memiliki aktivitas anti-oksidan, dan terbukti dapat meningkatkan volume kolagen selama proses penyembuhan luka (Kim *et al.*, 2008). *Epigallocatechin gallate* juga telah digunakan sebagai agen untuk menstimulasi pembentukan keratinosit. Selain itu, aktivitas anti-fibrogeniknya juga telah dikonfirmasi dalam beberapa hewan model penelitian (Hsu *et al.*, 2003).

Efek menguntungkan dari penggunaan EGCG adalah kualitas penyembuhan luka yang baik karena memiliki efek peningkatan pertumbuhan endotel pembuluh darah, percepatan pembentukan pembuluh darah, dan peningkatan oksida nitrat dan siklooksigenase (Kaphoor *et al.*, 2004). Keberadaan pembuluh darah di area sekitar luka dapat membantu distribusi nutrisi ke dalam sel dan berkontribusi dalam percepatan proses penyembuhan luka (Hashimoto *et al.*, 2002)

*Epigallocatechin gallate* diduga sebagai agen ekspresif untuk gen faktor pertumbuhan jaringan ikat dan regulator penghambatan ekspresi gen kolagen. Aktivitas lainnya, misalnya efeknya terhadap produksi dan diferensiasi miofibroblas, pertumbuhan jaringan ikat, dan klasifikasi regulasi kolagen telah terbukti (Klass *et al.*, 2010). Perbaikan yang terjadi secara signifikan dalam re-epitelisasi, deposisi kolagen, inflamasi dan angiogenesis pada pemberian salep dengan konsentrasi 4%, dapat disebabkan karena berbagai aktivitas EGCG dalam meningkatkan re-epitelisasi dan sintesis kolagen serta penurunan proses inflamasi dan angiogenesis.

## SIMPULAN

Temuan dari penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian salep EGCG 4% selama 14 hari dapat mempercepat proses penyembuhan luka bakar derajat II pada tikus putih. Proses kesembuhan luka ditandai dengan perbaikan deposisi kolagen, infiltrasi PMN pada area luka, angiogenesis dan derajat fibrosis. Dengan demikian, EGCG memiliki potensi untuk dikembangkan

menjadi produk terapi untuk perawatan luka bakar.

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan waktu yang lebih lama dengan menggunakan bahan dasar sediaan topikal yang berbeda. Mengingat proses kesembuhan luka bakar sedikit berbeda dengan jenis luka yang lain, misalnya luka insisi atau luka operasi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya, yang telah memberikan segala fasilitas sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akbari H, Fatemi MJ, Iranpour M, Khodarahmi A, Baghaee M, Pedram MS, Saleh S, Araghi S. 2015. The healing effect of nettle extract on second degree burn wounds. *World J Plast Surg* 4(1): 23-28
- Alizadeh AM, Sohanaki H, Khaniki M, Mohaghheghi MA, Ghmami G, Mosavi M. 2011. The Effect of Teucrium Polium Honey on the Wound Healing and Tensile Strength in Rat. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 14(6): 499-505.
- Ghosh P K, Gaba A. 2013. Phyto-extracts in wound healing. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 16(5): 760-820.
- Gurung S, Skalko-Basnet, N. 2009. Wound healing properties of *Carica papaya* latex: in vivo evaluation in mice burn model. *Journal of Ethnopharmacology* 121(2): 338-341.
- Harding G, Moore K, Phillips TJ. 2005. Wound chronicity and fibroblast senescence implications for treatment. *International Wound Journal* 2(4): 364-368.
- Hashimoto I, Nakanishi H, Shono Y, Toda H, Tsuda H, Arase S. 2002. Angiostatic effects of corticosteroid on wound healing of the rabbit ear. *J Med Invest* 49: 61-66
- Hosnuter M, Melikoglu C, Aslan C, Saglam G, Sutcu, C. 2015. The Protective Effects of

- Epigallocatechin Gallate Against Distant Organ Damage After Severe Skin Burns-Experimental Study Using a Rat Model of Thermal Trauma. *Adv Clin Exp Med* 24(3): 409-417.
- Hsu S, Bollag WB, Lewis J, Huang Q, Singh B, Sharawy B. 2003. Green tea polyphenols induce differentiation and proliferation in epidermal keratinocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 306(1): 29-34
- Kapoor M, Howard R, Hall I, Appleton I. 2004. Effects of epicatechin gallate on wound healing and scar formation in a full thickness incisional wound healing model in rats. *Am J Pathol* 165(1): 299-307
- Kim H, Kawazoe T, Han DW, Matsumara K, Suzuki S, Tsutsumi S. 2008. Enhanced wound healing by an epigallocatechin gallate-incorporated. *Wound Repair Regen* 16(5): 714-720
- Klass BR, Branford OA, Grobbelaar AO, Rolfe KJ. 2010. The effect of epigallocatechin-3-gallate, a constituent of green tea, on transforming growth factor-beta1-stimulated wound contraction. *Wound Repair Regen* 18: 80-88.
- Lansky EP, Newman RA. Punica granatum (Delima) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology* 109(2): 177-206.
- Murthy S, Gautam MK, Goel S, Purohit V, Sharma H, Goel RK. 2013. Evaluation of in vivo wound healing activity of Bacopa monniera on different wound model in rats. *Biomed Res Int*: 1-9.
- Nagle DG, Farreira D, Zhou YD. 2006. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG): Chemical and Biomedical Perspectives. *Phytochemistry* 67(17): 1849-1855.
- Obaid AY, Abu-Zinadah OA, Hussein, HK. 2011. The Beneficial Effects of Green Tea Extract and its Main Derivatives in Repairing Skin Burns of Rabbit. *International Journal of Biological Chemistry* 5(2): 103-115.
- Parihar A, Parihar MS, Milner S, Bhat S. 2008. Oxidative stress and anti-oxidative mobilization in burn injury. *Burns* 34: 6-17.
- Pirbalouti AG, Shahrzad A, Abed K, Hamed B. 2010. Wound healing activity of Malva sylvestris and Punica granatum in alloxan-induced diabetic rats. *Acta Poloniae Pharmaceutica* 67(5): 511-516.
- Robson MC. 1997. Wound infection. A failure of wound healing caused by an imbalance of bacteria. *Surg Clin North Am* 77: 637-650.
- Snyder RJ. 2005. Treatment of nonhealing ulcers with allografts. *Clin Dermatol* 23: 388-395.
- Suntar IP, Akkol EK, Yilmazer D. 2010. Investigations on the in vivo wound healing potential of Hypericum perforatum L. *Journal of Ethnopharmacology* 127(2): 468-477.
- Varoglu E, Seven B, Gumustekin K, Aktas O, Sahin A, Dane S. 2010. The effects of vitamin E and selenium on blood flow to experimental skin burns in rats using the 133Xe clearance technique. *Central European Journal of Medicine* 5(2): 219-223.
- Yamabe N, Yokozawa T, Oya T, Kim M. 2006. Therapeutic potential of (-)-epigallocatechin 3-O-gallate on renal damage in diabetic nephropathy model rats. *J Pharmacol Exp Ther* 319: 228-236.
- Yuniarti WM. 2012. Efek Antifibrotik Ekstrak Buah Delima (*Punica granatum* L.) Pada Fibrosis Hati. *Disertasi*. Surabaya. Universitas Airlangga.
- Zhen MC, Huang XH, Wang Q, Sun K, Liu YJ, Li W. 2006. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate suppresses rat hepatic stellate cell invasion by inhibition of MMP-2 expression and its activation. *Acta Pharmacol Sin* 27: 1600-1607.