

Pemberian Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Topikal Meningkatkan Regenerasi Jaringan Luka Tikus Diabetes Melitus

Maria Margaretha Hibono¹

ABSTRAK

Penyebab kegagalan penyembuhan luka pada diabetes mellitus adalah multifaktorial. Kegagalan dari fungsi leukosit adalah faktor yang utama dari penyembuhan luka diabetes yang sulit sembuh. *Thymoquinone*, zat aktif utama pada jintan hitam, mempunyai efek anti mikroba, anti inflamasi, immunomodulator, dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) yang diberikan secara topikal terhadap peningkatan regenerasi jaringan luka yang dilihat dari neovaskularisasi, jumlah fibroblas, dan epitelisasi pada tikus diabetes melitus. Penelitian ini menggunakan tikus (*Rattus novergicus*) usia 3-4 bulan sebagai subjek yang secara anatomis memiliki kesamaan dengan manusia dewasa. Penelitian eksperimental ini menggunakan rancangan penelitian *Posttest Only Control Group Design*. Subjek penelitian dibuat menjadi diabetes dengan pemberian Streptozotocin (STZ) dengan dosis tunggal 50 mg/kgBB, yang disuntikkan secara intraperitoneal. Jumlah sampel dalam penelitian ini 30 ekor tikus diabetes yang dibagi menjadi 3 kelompok. Tikus dilukai kulit punggungnya dengan diambil kulit *full thickness* diameter 0,5 cm menggunakan pump biopsi. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol negatif diberi cream emulgi topikal dengan oral amoksilin, kelompok ke-dua adalah kelompok perlakuan diberi minyak jintan hitam 100% topikal dengan oral amoksilin, dan kelompok ke-tiga adalah kelompok kontrol positif diberi salep mupirocin 2% topikal dengan oral amoksilin untuk masing-masing kelompok selama 14 hari. Tikus dikorbakan pada hari ke 14 dan diambil jaringan lukanya untuk dilakukan

pemeriksaan histopatologi terhadap neovaskularisasi, jumlah fibroblas, dan epitelisasi.

Berdasarkan hasil analisis sesudah perlakuan didapatkan bahwa rerata neovaskularisasi kelompok kontrol negatif adalah $25,00 \pm 1,89$, kelompok perlakuan adalah $8,30 \pm 2,21$, dan kelompok kontrol positif adalah $7,50 \pm 2,51$; rerata jumlah fibroblas kelompok kontrol negatif adalah $79,10 \pm 2,81$, kelompok perlakuan adalah $32,80 \pm 4,73$, dan kelompok kontrol positif adalah $29,90 \pm 4,99$; rerata epitelisasi kontrol negatif adalah $60,84 \pm 2,79$, kelompok perlakuan adalah $96,96 \pm 9,59$, dan kelompok kontrol positif adalah $96,30 \pm 1,17$. Selanjutnya pada rerata neovaskularisasi dan jumlah fibroblas diuji dengan uji *One Way Anova* diperoleh hasil berbeda secara bermakna ($p < 0,05$), dan dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference - test LSD* pada neovaskularisasi dan jumlah fibroblas antara ketiga kelompok diperoleh hasil perbedaan bermakna kecuali antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol positif. Sedangkan uji perbandingan antara ketiga kelompok terhadap rerata epitelisasi dengan menggunakan *Kruskal-Wallis* menunjukkan hasil berbeda secara bermakna ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*, diperoleh hasil perbedaan bermakna kecuali antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol positif.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian minyak jintan hitam secara topikal dapat meningkatkan regenerasi jaringan luka pada tikus diabetes dengan cara meningkatkan epitelisasi, menurunkan neovaskularisasi dan jumlah fibroblas pada hari ke 14.

Kata kunci : diabetes, penyembuhan luka, neovaskularisasi, fibroblas, epitelisasi, *thymoquinone*, minyak jintan hitam.

¹Program Magister Program
Studi Ilmu Biomedik
Kekhususan Anti Aging
Program Pascasarjana
Universitas Udayana Denpasar

PENDAHULUAN

Prevalensi diabetes melitus tipe 2 di dunia meningkat secara tajam selama 2 dekade terakhir (Powers *et al.*, 2008). Salah satu komplikasi yang membuat seorang yang menderita diabetes melitus tipe 2 menjadi tidak berdaya adalah berkembangnya kronik ulkus diabetikum. Hal ini disebabkan karena kegagalan proses penyembuhan luka pada diabetes sehingga menyebabkan luka menjadi kronis (Pradhan *et al.*, 2007). Penyebab kegagalan

penyembuhan luka akibat diabetes terutama pada kegagalan fungsi leukosit yang terkait dengan hiperglikemia (Pradhan *et al.*, 2007; Powers *et al.*, 2008). Selain itu keadaan iskemi sekunder (Singer and Clark, 1999), kegagalan fungsi granulositik dan kemotaksis sehingga menyebabkan mudah terjadi infeksi, perpanjangan waktu inflamasi, kegagalan angiogenesis, penurunan sintesis kolagen, peningkatan level proteinase, dan kegagalan re-epitelisasi (Singer and Clark, 1999; Pradhan *et al.*, 2007).

Diterima : 29 September 2017
Disetujui : 16 Oktober 2017
Diterbitkan : 25 Oktober 2017

Salah satu tanaman herbal yang sudah dipakai secara tradisional dalam penyembuhan luka, ulkus, dan beberapa tipe luka bakar adalah minyak jintan hitam (Zinadah, 2009; Halawani, 2009). *Nigella sativa* mengandung bahan aktif utama *thymoquinone* dapat memicu terjadinya produksi interleukin dan makrofag sehingga dapat memicu sekresi zat kemotaktik dan *growth factor* yang dapat mempercepat penyembuhan luka (Al-Mutheffer, 2010). Selain itu *thymoquinone* mempunyai efek anti mikroba dan antioksidan yang dapat mempercepat penyembuhan luka (Halawani, 2009). Minyak jintan hitam juga mempunyai asam lemak (asam linoleat, asam oleat, dan asam linolenat) yang diperlukan untuk meningkatkan proses kemotaktik, meningkatkan respon inflamasi pada fase awal dan menurunkan inflamasi pada fase akhir (Zhang *et al.*, 2013), serta dapat menginduksi granulasi sehingga meningkatkan epitelisasi dan neovaskular pada luka (Ferreira *et al.*, 2012). Pemberian minyak jintan hitam secara topikal terhadap luka penderita diabetes diharapkan dapat mampu meningkatkan penyembuhan dan regenerasi jaringan luka sehingga dapat menurunkan angka morbiditas akibat komplikasi yang ditimbulkan.

BAHAN DAN METODE

Ekstrak Minyak Jintan Hitam

Biji jintan hitam didapatkan dari pasar lokal di Yogyakarta dan diekstrak dengan menggunakan metode *cold processed* (Lutterodt *et al.*, 2010). Pengujian zat *thymoquinone* dan asam lemak dilakukan di Universitas Gadjah Mada.

Perlakuan pada Tikus

Penelitian ini menggunakan tiga puluh tikus Wistar jantan dengan berat badan tikus \pm 200-250 gram dan berumur 3-4 bulan. Subjek penelitian diadaptasikan selama 7 hari dalam kandang dan diberi makanan dan minuman standar. Hewan coba kemudian diinjeksi dengan 50 mg/kg streptozotocin dosis tunggal secara intraperitoneal (Gajdosik *et al.*, 1999) untuk menginduksi terjadinya diabetes dimana menyebabkan kerusakan pulau langerhans sel beta pankreas dan menyebabkan hiperglikemia persisten. Glukosa darah sewaktu diperiksa 4 hari kemudian untuk menentukan keadaan diabetes hewan coba. Diabetes ditentukan bila level glukosa darah \geq 200 mg/dL (Barbalho *et al.*, 2011) dan 30 ekor tikus yang memenuhi kriteria dimasukkan ke dalam penelitian ini. Tiga puluh ekor tikus tersebut kemudian dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (cream emulgide), kelompok perlakuan (minyak jintan hitam 100%), dan kelompok kontrol positif (salep mupirocin 2%).

Sebelum dilukai, tikus dianestesi dengan menggunakan kombinasi ketamin (20 mg/kg BB) dan xylazin (5 mg/kg BB) secara intraperitoneal dan bulu pada punggung di sekitar daerah sayatan dicukur sampai licin dan dibersihkan dengan kapas beralkohol 70%. Punggung tikus diambil kulit *full thickness* dengan diameter 0,5 cm dan kedalaman 3 mm dengan menggunakan pump biopsi sejajar os vertebrae, berjarak 5 cm dari telinga kemudian diberi perlakuan menurut kelompoknya selama 14 hari. Kelompok kontrol negatif diberikan pengolesan cream emulgide 3 kali sehari. Kelompok perlakuan diberikan pengolesan minyak jintan hitam 100% 0,1 cc 3 kali sehari. Kelompok kontrol positif diberikan pengolesan salep mupirocin 2% 3 kali. Ketiga kelompok diberi amoxicillin oral selama 3 hari untuk mencegah infeksi sekunder sehingga tidak mengaburkan hasil penelitian.

Pengamatan Histopatologi

Pengambilan sampel kulit dilakukan setelah mengorbankan tikus untuk tujuan pemeriksaan histopatologi. Daerah luka dieksisi dengan diameter 1 cm dan ketebalan 3 mm. Sampel kemudian dipersiapkan untuk pemeriksaan histopatologi dengan dibuat preparat menggunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). Pengamatan histopatologi dengan cara menghitung jumlah fibroblas dan neovaskularisasi menggunakan mikroskop elektron (Olympus CX-21 Japan) dengan pembesaran objektif 40x, dan mengukur epitelisasi dengan video mikrometer FDR-A IV-560, pembesaran objektif 4x dengan menghitung persentase re-epitelisasinya. Presentasi re-epitelisasi menurut Prasetyo *et al* (2010):

$$\% \text{ Re-epitelisasi} = \frac{\text{Panjang luka dengan epitel baru}}{\text{Panjang luka keseluruhan}} \times 100\%$$

Analisa Statistik

Data dianalisa dengan langkah sebagai berikut: Analisa deskriptif untuk melihat karakteristik data, normalitas data diperiksa menggunakan tes *Shapiro-Wilk*, analisa homogenitas data menggunakan *Levene's test*. Analisa komparasi antar ketiga kelompok dilakukan dengan menggunakan tes *One way Anova* untuk data yang berdistribusi normal dan homogeny. Data yang tidak berdistribusi normal dan tidak homogen menggunakan tes *Kruskal Wallis*. Derajat kepercayaan pada penelitian ini adalah 95% ($\alpha = 0.05$) dimana H_0 ditolak jika $p < 0.05$. Data diproses dengan SPSS versi 16 untuk Windows.

HASIL

Minyak jintan hitam lokal mengandung *thymoquinone* 2,27%, asam Linolenat 2,636%, asam

Tabel 1. Rerata Neovaskularisasi antar Kelompok Sesudah Diberikan Perlakuan

Kelompok Subjek	n	Rerata Neovaskularisasi	SB	F	p
Kontrol negatif	10	25,00	1,89		
Perlakuan	10	8,30	2,21	198,79	0,001
Kontrol positif	10	7,50	2,51		

Tabel 2. Beda Nyata Terkecil Neovaskularisasi Sesudah Diberikan Perlakuan antar Dua Kelompok

Kelompok	Beda Rerata	p	Interpretasi
Kontrol negatif dan Perlakuan	16,70	0,001	Berbeda signifikan
Kontrol negatif dan Kontrol positif	17,50	0,001	Berbeda signifikan
Perlakuan dan Kontrol positif	0,80	0,427	Tidak Berbeda signifikan

Tabel 3. Rerata Fibroblas antar Kelompok Sesudah Diberikan Perlakuan

Kelompok Subjek	n	Rerata Fibroblas	SB	F	P
Kontrol negatif	10	79,10	2,81		
Perlakuan	10	32,80	4,73	413,70	0,001
Kontrol positif	10	29,90	4,99		

Tabel 4. Beda Nyata Terkecil Fibroblas Sesudah Diberikan Perlakuan antar Dua Kelompok

Kelompok	Beda Rerata	p	Interpretasi
Kontrol negatif dan Perlakuan	46,30	0,001	Berbeda signifikan
Kontrol negatif dan Kontrol positif	49,20	0,001	Berbeda signifikan
Perlakuan dan Kontrol positif	2,90	0,142	Tidak Berbeda signifikan

Linoleat 1,073%, dan asam oleat 76,482%.

Analisis efek perlakuan diuji berdasarkan rerata neovaskularisasi antar kelompok sesudah diberikan perlakuan berupa minyak jintan hitam 100%. Analisis yang signifikan dengan uji *One Way Anova* disajikan pada **tabel 1**.

Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok lebih lanjut perlu dilakukan uji lanjutan dengan *Least Significant Difference - test (LSD)*. Hasil analisis *Post Hoc* disajikan pada **Tabel 2**.

Analisis efek perlakuan diuji berdasarkan rerata jumlah fibroblas antar kelompok sesudah diberikan perlakuan berupa minyak jintan hitam 100%. Analisis yang signifikan dengan uji *One Way Anova* disajikan pada **tabel 3**.

Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok lebih lanjut perlu dilakukan uji lanjutan dengan *Least Significant Difference - test (LSD)*. Hasil analisis *Post Hoc* disajikan pada **Tabel 4**.

Analisis efek perlakuan diuji berdasarkan rerata epitelisasi antar kelompok sesudah diberikan perlakuan berupa minyak jintan hitam 100%. Analisis yang signifikan dengan uji *Kruskal-Wallis* disajikan pada **tabel 5**.

Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok lebih lanjut perlu dilakukan uji lanjutan dengan uji *Mann-Whitney*. Hasil analisis *Post Hoc* disajikan pada **Tabel 6**.

DISKUSI

Pemberian Minyak Jintan Hitam Topikal terhadap Penyembuhan Luka Diabetes

Kunci utama dari penyembuhan luka pada diabetes adalah mengembalikan aktifitas leukosit yang terganggu terutama makrofag. Makrofag memegang peranan penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri serta bertanggung jawab dalam sekresi *growth factor* yang diperlukan dalam fase-fase penyembuhan luka terutama untuk pembentukan neovaskuler, proliferasi dan migrasi fibroblas, dan epitelisasi (Prasetyo *et al.*, 2010).

Neovaskularisasi

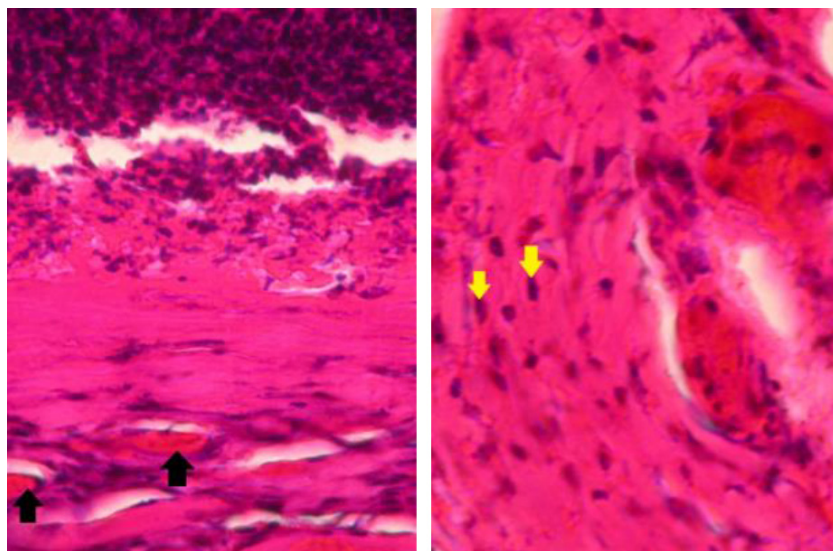
Neovaskularisasi merupakan pembuluh darah baru berupa tunas-tunas yang terbentuk dari pembuluh darah dan akan berkembang menjadi percabangan baru pada jaringan luka (Singer dan Clark, 1999). Pembentukan neovaskularisasi mencapai puncaknya pada hari ke 3-5 setelah terjadinya luka

Tabel 5. Rerata Epitelisasi antar Kelompok Sesudah Diberikan Perlakuan

Kelompok Subjek	n	Rerata Epitelisasi (%)	SB	X ²	P
Kontrol negatif	10	60,84	2,79		
Perlakuan	10	96,96	9,59	23,229	0,001
Kontrol positif	10	96,30	1,17		

Tabel 6. Beda Epitelisasi Sesudah Diberikan Perlakuan antar Dua Kelompok

Kelompok Subjek	U	p	Interpretasi
Kontrol negatif dan Perlakuan	23,229	0,001	Berbeda signifikan
Kontrol negatif dan Kontrol Positif	3,00	0,001	Berbeda signifikan
Perlakuan dan Kontrol Positif	49,5	0,971	Tidak Berbeda signifikan

**Gambar 1.** Neovaskularisasi (⬆) dan Fibroblas (⬇) pada Kelompok Kontrol Negatif (Pewarnaan HE, pembesaran obyektif 40x)

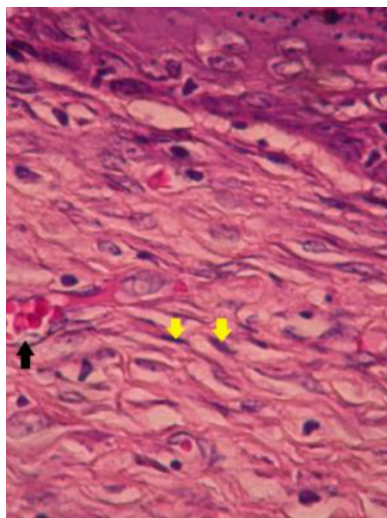
dan perlahan jumlahnya akan menurun sekitar hari ke-7 (Dyson *et al.*, 1992).

Berdasarkan hasil analisis pada hari ke 14 didapatkan bahwa rerata neovaskularisasi kelompok perlakuan lebih rendah secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (Tabel 2). Hal ini disebabkan karena pada kelompok perlakuan sudah terjadi penyembuhan luka yang lebih baik, dimana peranan kapiler dalam menyediakan nutrisi bagi regenerasi sel-sel sudah optimal sehingga jumlah neovaskular mulai berkurang. Kandungan zat *thymoquinone* pada minyak jintan hitam memicu pengeluaran makrofag pada daerah luka pada fase awal penyembuhan luka (Al-Mutheffer, 2010), dimana makrofag berperan dalam mensekresi berbagai macam *growth factor* yang diperlukan untuk proses neovaskularisasi sehingga proses neovaskularisasi dapat berlangsung optimal dan perlahan akan menurun jumlahnya sekitar hari ke-7 apabila jaringan granulasi baru telah terbentuk dengan baik (Dyson *et al.*, 1992). Peran anti oksidan pada *thymoquinone* dapat menghambat MMP, dimana peningkatan MMP akan menurunkan kadar TGF- β sehingga kadar NO meningkat tajam dan akan memberikan efek menurunnya sel endotelial (Stojadinovic *et al.*, 2012). Kandungan asam lemak terutama asam linoleat dan asam oleat yang terdapat pada minyak jintan hitam dapat meningkatkan total migrasi sel melewati luka selama proses perbaikan (Sarkhail *et al.*, 2011), memfasilitasi masuknya *growth factor* ke dalam sel (Ferreira *et al.*, 2012), dan meningkatkan kemotaksis (Ekmektzoglou *et al.*, 2006).

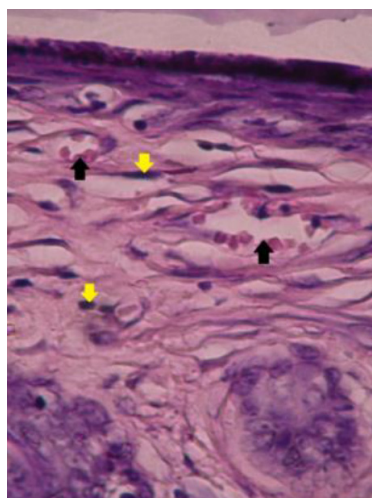
Pada hasil penelitian didapatkan jumlah neovaskularisasi kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol positif tidak ada perbedaan bermakna ($p > 0,05$) meskipun kelompok perlakuan jumlah neovaskularisasinya lebih tinggi. Hal ini dapat disimpulkan bahwa minyak jintan hitam 100% sama efektifnya dengan salep mupirocin 2% dalam meningkatkan neovaskularisasi pada luka diabetes.

Fibroblas

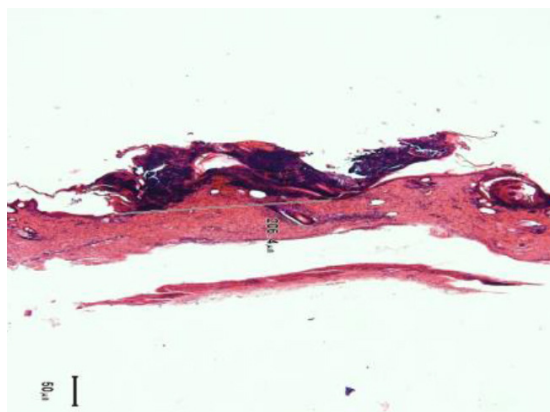
Fibroblas merupakan sel berbentuk fusiformis diantara serabut-serabut jaringan ikat yang berpengaruh dalam proses kontraksi luka, pembentukan kolagen, serta komponen matriks ekstraseluler (Falanga, 2007). Jumlah fibroblas akan mencapai maksimal pada hari ke 5-7 seiring dengan puncak sintesis kolagen tipe III. Fibroblas akan berhenti menghasilkan kolagen dan jaringan granulasi yang kaya fibroblas digantikan oleh jaringan parut yang aseluler sehingga jumlah



Gambar 2. Neovaskularisasi (↑) dan Fibroblas (↓) pada Kelompok Perlakuan (Pewarnaan HE, pembesaran obyektif 40x)



Gambar 3. Neovaskularisasi (↑) dan Fibroblas (↓) pada Kelompok Kontrol Positif (Pewarnaan HE, pembesaran obyektif 40x)



Gambar 4. Epitelisasi pada Kelompok Kontrol Negatif (Pewarnaan HE, pembesaran obyektif 4x)

fibroblas akan menurun setelah hari ke 7 (Singer and Clark, 1999).

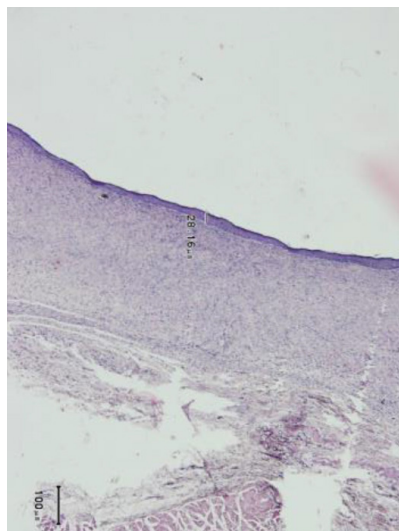
Berdasarkan hasil analisis pada hari ke 14 didapatkan bahwa rerata jumlah fibroblas kelompok perlakuan lebih rendah secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (tabel 4). Hal ini disebabkan karena pada kelompok perlakuan sudah terjadi penyembuhan luka yang lebih baik, dimana kebutuhan akan kolagen yang diproduksi oleh fibroblas sudah optimal dan tidak akan bertambah lagi. Sejalan dengan pembentukan jaringan ikat yang baru, beberapa fibroblas mengalami perubahan fenotipik menjadi *actin-rich* miofibroblas. Sel ini memiliki karakteristik fibroblas dan otot polos. Sebagian sel pada jaringan luka mengalami apoptosis yg dipicu oleh sinyal yg tak diketahui (Singer and Clark, 1999). Kandungan zat *thymoquinone* pada minyak jintan hitam memicu pengeluaran makrofag pada daerah luka pada fase awal penyembuhan luka (Al-Mutheffer, 2010), dimana makrofag berperan dalam mensekresi berbagai macam *growth factor* yang diperlukan untuk proses migrasi dan proliferasi fibroblas sehingga terjadi pembentukan sel fibroblas yang optimal untuk mensintesis kolagen. Fibroblas akan berhenti menghasilkan kolagen apabila sintesis kolagen tipe III mencapai puncaknya dan jaringan granulasi yang kaya fibroblas digantikan oleh jaringan parut yang aseluler sehingga jumlah fibroblas akan menurun setelah hari ke 7 (Singer and Clark, 1999).

Pada hasil penelitian didapatkan jumlah fibroblas kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol positif tidak ada perbedaan bermakna ($p > 0,05$). Hal ini dapat disimpulkan bahwa minyak jintan hitam 100% sama efektifnya dengan salep mupirocin 2% dalam meningkatkan proliferasi dan migrasi fibroblas pada luka diabetes.

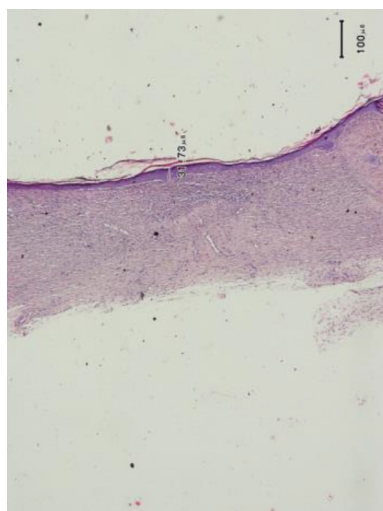
Epitelisasi

Re-epitelisasi merupakan tahapan perbaikan luka yang meliputi migrasi, mitosis dan diferensiasi sel epitel. Tahapan-tahapan ini akan mengembalikan integritas kulit yang hilang (Falanga, 2007). Luka akan tertutup sepenuhnya apabila sel-sel epitel telah menyatu di bagian tengah luka.

Berdasarkan hasil analisis pada hari ke 14 didapatkan bahwa pada kelompok perlakuan mempunyai presentase epitelisasi yang lebih tinggi secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (Tabel 6). Hal ini disebabkan karena pada minyak jintan hitam mempunyai efek anti bakterial dari *thymoquinone* dan asam linoleat yang



Gambar 5. Epitelisasi pada Kelompok Perlakuan (Pewarnaan HE, pembesaran obyektif 4x)



Gambar 6. Epitelisasi pada Kelompok Kontrol Positif (Pewarnaan HE, pembesaran obyektif 4x)

dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sehingga membuat reepitelisasi menjadi lebih cepat (Zinadah, 2009; Halawani, 2009). *Growth factor* yang disekresi oleh fibroblas dan makrofag diperlukan untuk migrasi dan proliferasi sel epitel (Prasetyo *et al.*, 2010). Peranan anti oksidan (*oxygen scavenger*) yang ada pada minyak jintan juga dapat mempercepat terjadinya epitelisasi (Al-Mutheffer, 2010). Penyembuhan luka sangat dipengaruhi oleh re-epitelisasi, karena semakin cepat proses re-epitelisasi semakin cepat pula luka tertutup sehingga semakin cepat penyembuhan luka (Prasetyo *et al.*, 2010).

Pada hasil penelitian didapatkan persentase epitelisasi kelompok perlakuan dengan

kelompok kontrol positif tidak ada perbedaan bermakna ($p > 0,05$). Hal ini dapat disimpulkan bahwa minyak jintan hitam 100% sama efektifnya dengan salep mupirocin 2% dalam meningkatkan re-epitelisasi pada luka diabetes.

SIMPULAN

Pemberian minyak jintan hitam secara topikal dapat meningkatkan regenerasi jaringan luka pada tikus diabetes dengan cara meningkatkan epitelisasi, menurunkan neovaskularisasi dan jumlah fibroblas pada hari ke 14.

DAFTAR PUSTAKA

Al-Mutheffer, E. A. 2010. The Effect of Local Application Black Seed (*Nigella sativa*) on Wound Healing in Rabbits. *Al-Anbar Journal Veterinary Sciences*, vol.: 3 No. (1).

Barbalho, S. M., Damasceno, D. C., Spada, A. P. M., da Silva, V. S., Martuchi, K. A., Oshiiwa, M., Machado, F. M. V. F., Mendes, C. G. 2011. Metabolic Profile of Offspring from Diabetic Wistar Rats Treated with *Mentha piperita* (Peppermint). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol 2011, Article ID 430237, 6 pages doi:10.1155/2011/430237.

Dyson, M., Young, S. R., Hart, J., Lynch, J. A., Lang, S. 1992. Comparison of the Effects of Moist and Dry Conditions on the Process of Angiogenesis During Dermal Repair. *Journal of Investigative Dermatology*, 99: 729-733.

Ekmektzoglou K. A., Zografos G. C. 2006. A concomitant review of the effects of diabetes mellitus and hypothyroidism in wound healing. *World Journal of Gastroenterology*, vol 12(17): 2721-2729.

Falanga, V. 2007. *Wound Repair: Mechanisms and Practical Consideration*. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. Sixth Edition p 236- 242.

Ferreira, A. M., de Souza, B. M. V., Rigotti, M. A., Loureiro, M. R. D. 2012. The Use of Fatty Acids in Wound Care: An Integrative Review of The Brazilian Literature. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, 46(3):752-60

Gajdosík, A., Gajdosíková, A., Stefek, M., Navarová, J., Hozová, R. 1999. Streptozotocin-Induced Experimental Diabetes In Male Wistar Rats. *General Physiology and Biophysics*, 18 Spec No:54-62.

- Halawani, E. 2009. Antibacterial Activity of Thymoquinone and Thymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and Their Interaction with Some Antibiotics. *Advances in Biological Research*, 3 (5-6): 148-152.
- Lutterodt, H., Luther, M., Slavin, M., Yin, J., Parry, J., Gao, J., Yu, L. 2010. Fatty Acid Profile, Thymoquinone Content, Oxidative Stability, and Antioxidant Properties of Cold-Pressed Black Cumin Seed Oils. *LWT-Food Science and Technology*, 43: 1409-1413.
- Powers, A.C. 2008. Diabetes Mellitus. In: Fauci, A. S., Kasper, D. L., Longo, D. L., Braunwald, E., Hauser S. L., Jameson, J. L., Loscalzo, J., editors. *Harrisons Principles of Internal Medicine*. 17th. Ed. New York: McGraw-Hill. p. 2275-2304.
- Pradhan, L., Andersen, N. D., Nabzdyk, C., LoGerfo, F. W., Veves A. 2007. *Wound-healing Abnormalities in Diabetes and New Therapeutic Interventions*. Available from: <http://www.touchbriefings.com/pdf/2781/Pradhan.pdf>. Accessed November 4th 2012
- Prasetyo, B. F., Wientarsih I, dan Priosoeryanto, B.P. 2010. Aktivitas sediaan Ekstrak Batang Pisang Ambon dalam Proses Penyembuhan Luka pada Mencit, *Jurnal Veteriner*, 11. p:70-73.
- Sarkhail, P., Esmaily, H., Baghaei, A., Shafiee, A., Abdollahi, M., Khademi, Y., Madandar, M., Sarkheil, P. 2011. Burn Healing Potential of *Nigella sativa* Seed Oil In Rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol. 2(1): 34-40.
- Singer, A. J., dan Clark, R. A. F. 1999. Cutaneous Wound Healing. *The New England Journal of Medicine*, 341:738-746.
- Stojadinovic, O., Pastar, I., Gordon, K. A., Tomic-Canic, M. 2012. Physiology and Pathophysiology of Wound Healing in Diabetes. *The Diabetic Foot Contemporary Diabetes*. p. 127-149.
- Zhang, Y., Fang, Y., Yu, W. Lu, H., Peng, Y., Yao, M. 2013. *Effects of topical application of oleic acid on wound healing in diabetic mice*. Available from: <http://xuebao.shsmu.edu.cn/EN/abstract/abstract9957.shtml>. Accessed September 5th 2013.
- Zinadah, O. A. 2009. Using *Nigella sativa* Oil to Treat and Heal Chemical Induced Wound of Rabbit skin. *Journal of King Abdulaziz University: Sci*. Vol. 21. No. 2, pp: 335-346.