

PENGEKSTRAKAN *SWIETENIA MAHAGONI*
MENGUNAKAN KARBON DIOKSIDA LAMPAU GENTING DAN POTENSI
EKSTRAK SEBAGAI PENYEMBUH LUKA

HARTATI

Tesis ini dikemukakan sebagai memenuhi
syarat penganugerahan ijazah
Doktor Falsafah (Kejuruteraan Bioproses)

Fakulti Kejuruteraan Kimia
Universiti Teknologi Malaysia

JULAI 2015

Dikhaskan untuk yang saya sayangi dan sentiasa menyokong saya

Ayah dan mama,

Suami saya Andi Ahmad

Anak-anak saya, ahli keluarga dan kawan-kawan

Orang-orang yang memberi inspirasi kepada saya untuk penyelesaian pengajian ini

PENGHARGAAN

Dengan nama Allah Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang. Setinggi-tinggi kesyukuran dipanjatkan kepada Allah SWT, kerana dengan limpahan rahmat dan kurnia serta izin-Nya jualah kajian ini dapat disempurnakan.

Saya ingin merakamkan penghargaan dan terima kasih kepada ketiga-tiga penyelia saya, Dr Liza Md Salleh, PM Dr. Azila Abd Azis dan PM Dr. Mohd Azizi Che Yunus atas segala ilmu, tunjuk ajar, bimbingan, nasihat dan dorongan yang diberikan sepanjang tempoh penyelidikan ini dijalankan.

Penghargaan ini juga saya tujukan buat juruteknik makmal bioproses, makmal Clear dan makmal kultur sel yang banyak membantu saya secara langsung dalam melancarkan penyelidikan ini iaitu Puan Siti Zalita, En. Yaakop, En. Latfi and Puan Zuhaili. Ucapan terima kasih yang tidak terhingga juga ditujukan buat rakan-rakan yang telah banyak memberi sokongan dari segi ilmu dan moral iaitu Syukriah, Roslina, Hasmida, Ramdan, Asyiqin, Salman, Hasan, Syamsiah, Huriah, Halifah, Rachmawaty, Arti Manikam dan Koay Yin Shin.

Jutaan terima kasih yang tidak terhingga buat bonda tersayang Baeti dan ayahanda Parseni yang tidak pernah lupa mendoakan kejayaan dan kebahagiaan anakanda. Penghargaan ini juga ditujukan buat suami tersayang Andi Ahmad, anakanda Andi Fathan Mubin, Andi Fathiyah Nurul Izzah dan saudara-saudaraku semuanya yang sentiasa memberi semangat dan kiriman doa.

ABSTRAK

Swietenia mahagoni (*S. Mahagoni*) atau lebih dikenali di Malaysia sebagai Tunjuk Langit telah digunakan dalam perubatan tradisional untuk merawat pelbagai jenis penyakit. Objektif kajian ini adalah untuk menentukan pemboleh ubah (tekanan, suhu, dan saiz partikel) bagi pengekstrakan asid linoleik daripada biji *S. mahagoni* menggunakan pengekstrakan lampau genting karbon dioksida (SC-CO₂) dan untuk mengkaji sifat-sifat penyembuhan luka daripada ekstrak biji *S. mahagoni* menggunakan model *in vitro*. Tiga parameter operasi SC-CO₂ telah dioptimumkan dengan kaedah tindak balas permukaan menggunakan reka bentuk *Box-Behnken* untuk mendapatkan hasil yang tinggi daripada biji *S. mahagoni*. Aktiviti antioksidan dinilai dengan menggunakan aktiviti sisa radikal bebas 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), manakala aktiviti antimikrob dinilai menggunakan kaedah resapan cakera. Kehadiran asid linoleik dalam ekstrak *S. mahagoni* disahkan dengan menggunakan kromatografi gas-spektrometri jisim (GC-MS). Kemudian, ujian ketoksikan, cerakin goresan, cerakin *transwell* dan penghasilan kolagen dijalankan untuk menyiasat ciri-ciri penyembuhan luka. Dapatan kajian menunjukkan keadaan yang optimum untuk hasil ekstrak biji *S. mahagoni* dalam julat eksperimen adalah 29.02 MPa, 57.88 °C dan 0.75 mm, dan hasil yang diramalkan adalah 20.68 % dengan asid linoleik sebanyak 34.91%. Dalam keadaan optimum, nilai eksperimen adalah sesuai dengan nilai-nilai yang diramalkan. Pengekstrakan *Soxhlet* daripada biji *S. mahagoni* mengandungi hasil tertinggi iaitu 41.08% ± 0.98 dan aktiviti antioksidan iaitu 90.14% ± 0.66. Sementara itu, hasil pengekstrakan SC-CO₂ ialah 20.07% ± 0.48 dengan aktiviti antioksidan 92.31% ± 2.89. Ekstrak biji *S. mahagoni* mempunyai kesan perencat terhadap pertumbuhan *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada kepekatan 100 mg/mL. Kesemua ekstrak merangsang pertumbuhan sel fibroblas pada kepekatan 0.1 - 0.001 mg/mL, mendorong kadar migrasi sehingga 100% dan menunjukkan statistik yang signifikan berbanding kawalan ($p < 0.05$). Kesan ekstrak SC-CO₂ biji *S. mahagoni* terhadap migrasi sel fibroblas meningkat secara signifikan berbanding kawalan negatif dan menggalakkan sintesis kolagen jenis-I.

ABSTRACT

Swietenia mahagoni (*S. mahagoni*) or commonly known in Malaysia as *Tunjuk Langit* has been used in traditional medicine for treatment of diseases. The objectives of this research are to determine conditions (pressure, temperature, and particle size) for extraction of linoleic acid from *S. mahagoni* seed extract by using supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) extraction and to investigate wound healing properties of *S. mahagoni* seed extract using an *in vitro* model. Three operating parameters of SC-CO₂ were optimized by response surface method using Box-Behnken design to obtain high yield of *S. mahagoni* seed extract. Its antioxidant activity was assessed by using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging method, while the antimicrobial activity was evaluated using disc diffusion method. The presence of linoleic acid in *S. mahagoni* extract was verified by using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Then, the toxicity, scratch assay, transwell assay and collagen production were conducted to investigate the wound healing properties. The results obtained in this study showed that the optimal conditions for *S. mahagoni* seed yield within the experimental range were found to be 29.02 MPa, 57.88 °C and 0.75 mm, while the predicted yield was found to be 20.68% with 34.91% of linoleic acid. Under these optimal conditions, the experimental values were in agreement with the predicted values. Soxhlet extraction of *S. mahagoni* seed with the highest yield was 41.08% ± 0.98 and antioxidant activity was 90.14% ± 0.66. Meanwhile, the yield of SC-CO₂ extraction was 20.07% ± 0.48 and the antioxidant activity was 92.31% ± 2.89. *S. mahagoni* seed extracts had inhibitory effects on the growth of *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli* at the concentration of 100 mg/mL. All extracts stimulated the growth of the fibroblast cell at 0.1 - 0.001 mg/mL, induced the migration rate up to 100% and exhibited statistically significant performance compared to control ($p < 0.05$). The effect of the SC-CO₂ extract of *S. mahagoni* seed on the cell migration fibroblast cell increased significantly when compared to the negative control and it was found to stimulate the synthesis of collagen type I.

KANDUNGAN

BAB	PERKARA	MUKA SURAT
	PENGAKUAN	ii
	DEDIKASI	iii
	PENGHARGAAN	iv
	ABSTRAK	v
	ABSTRACT	vi
	KANDUNGAN	vii
	SENARAI JADUAL	xiii
	SENARAI RAJAH	xv
	SENARAI SINGKATAN	xviii
	SENARAI SIMBOL	xx
	SENARAI LAMPIRAN	xxi
1	Pengenalan	1
	1.1 Latar Belakang Kajian	1
	1.2 Pernyataan Masalah	3
	1.3 Objektif Kajian	4
	1.4 Skop Kajian	5
	1.5 Sumbangan Penting	6
	1.6 Perincian Tesis	6
2	Tinjauan Literatur	8
	2.1 Pengenalan	8
	2.2 Tumbuhan Ubatan	8

2.3	Sebatian Bioaktif Dalam Tumbuhan	9
2.3.1	Sebatian Fenolik	10
2.3.2	Flavon, Flavonoid dan Flavonol	11
2.3.3	Tanin	11
2.3.4	Kumarin	11
2.3.5	Terpenoid dan Minyak Pati	12
2.3.6	Alkaloid	12
2.3.7	Asid Linoleik	12
2.3.7.1	Ciri-ciri dan Fungsi Asid Linoleik	12
2.3.7.2	Kajian Asid Linoleik dalam penyembuhan Luka	13
2.4	<i>Swietenia mahagoni</i>	17
2.4.1	Deskripsi Umum	17
2.4.2	Kajian Berkaitan <i>Swietenia mahagoni</i>	18
2.5	Kaedah Pengekstrakan	20
2.6	Pengekstrakan Bendalir Lampau Genting	24
2.6.1	Ciri-ciri Pengekstrakan Bendalir Lampau Genting	24
2.6.2	Pelarut Bagi Pengekstrakan Bendalir Lampau Genting	26
2.6.2.1	Kekutuban Karbon Dioksida Lampau Genting	27
2.6.3	Prinsip dan Mekanisme Pengekstrakan Bendalir Genting	28
2.6.4	Pemboleh Ubah Proses Pengekstrakan Bendalir Lampau Genting	29
2.6.4.1	Tekanan dan Suhu	30
2.6.4.2	Kadar Aliran Pelarut	31
2.6.4.3	Masa Pengekstrakan	32
2.6.4.4	Saiz Partikel	33
2.6.5	Pengoptimuman Pengekstrakan Bendalir Lampau Genting	33

2.6.6	Kelebihan Pengekstrakan Bendalir Lampau Genting	35
2.6.7	Penggunaan Pengekstrakan Bendalir Lampau Genting	38
2.7	Ekstrak Kaedah SC-CO ₂ Sebagai Bahan Antimikrob dan Antioksida	40
2.7.1	Bahan Antimikrob	42
2.7.2	Bahan Antioksida	43
2.8	Penyembuhan Luka	45
2.8.1	Proses Penyembuhan Luka	46
2.8.2	Jenis-Jenis Penyembuhan Luka	48
2.8.2.1	Penyembuhan Primer	48
2.8.2.2	Penyembuhan Primer Tertangguh	48
2.8.2.3	Penyembuhan Sekunder	49
2.8.2.4	Penyembuhan Luka Ringan	49
2.8.3	Sel-sel dan Faktor-Faktor Pertumbuhan yang Terlibat Dalam Penyembuhan Luka	50
2.8.4	Nutrien dan Penyembuhan Luka	53
2.9	Kulit	54
2.10	Fibroblas Kulit Manusia	55
2.11	Kolagen	57
3	METODOLOGI	58
3.1	Pengenalan	58
3.2	Bahan-Bahan	58
3.3	Pengesahan Sampel	60
3.4	Penyediaan Sampel	60
3.4.1	Serbuk Biji <i>S. mahagoni</i>	60
3.4.2	Penyediaan Sampel dari Ekstrak Biji <i>S.</i> <i>mahagoni</i>	60
3.4.2.1	Pengekstrakan Soxhlet	60

3.4.2.2	Penentuan Kadar Aliran CO ₂	61
3.4.2.3	Pengekstrakan Karbon Dioksida Lampau Genting (SC-CO ₂)	62
3.5	Reka Bentuk Eksperimen	63
3.6	Penentuan Hasil Ekstrak	65
3.7	Penilaian Fizikal Hasil Ekstrak	65
3.8	Penentuan Asid Linoleik	65
3.9	Aktiviti Antimikrob Ekstrak <i>Swietenia mahagoni</i>	66
3.9.1	Penyediaan Agar-agar Nutrien Condong	66
3.9.2	Penyediaan Larutan Ekstrak	67
3.9.3	Penyediaan Mikroorganisma	67
3.9.4	Penyaringan Aktiviti Antibakteria	67
3.10	Aktiviti Menghapus Sisa Radikal Bebas DPPH	68
3.11	Kandungan Jumlah Fenolik (TPC)	68
3.12	Kaedah Umum Penyelenggaraan Sel	69
3.12.1	Pemulihan Sel	69
3.12.2	Subkultur Sel	70
3.12.3	Pengawetankrio Sel	70
3.12.4	Pengiraan Sel dan Kebolehidupan Sel	71
3.12.5	Profil Pertumbuhan Sel	72
3.13	Penentuan Kesan Biji <i>S. mahagoni</i> terhadap Pertumbuhan Sel Menggunakan Kaedah Cerakin MTT	73
3.14	Kajian Keberkesanan Penutupan Goresan Lapisan Sel Fibroblas Menggunakan Kaedah Cerakin Goresan	74
3.15	Cerakin Migrasi Sel Culturex 24 Well Collagen I	75
3.16	Cerakin Kolagen Sircol	76
3.17	Analisis Statistik	77

4	KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN	78
4.1	Penentuan Kadar Aliran CO ₂ dan Masa Pengekstrakan Biji <i>S. mahagoni</i> Menggunakan Kaedah Pengekstrakan Karbon Dioksida Lampau Genting	78
4.1.1	Kajian Awalan Untuk Menentukan Kadar Aliran CO ₂ yang Paling Baik	79
4.1.2	Penghapusan Sisa Radikal Bebas DPPH	80
4.1.3	Jumlah Kandungan Fenolik (TPC)	81
4.1.4	Aktivitas Antimikrob	82
4.2	Pengoptimuman Hasil Pengekstrakan Biji <i>S. mahagoni</i> Menggunakan Kaedah Karbon Dioksida Lampau Genting (SC-CO ₂)	84
4.3	Penentuan Kualiti dan Kuantiti Asid Linoleik Hasil Ekstrak Biji <i>S. mahagoni</i> Menggunakan GC-MS	92
4.4	Analisis Perkadaran Hasil Linoleik terhadap parameter tekanan, suhu dan saiz partikel menggunakan RSM	95
4.4.1	Kesan Tekanan terhadap peratusan asid linoleik	97
4.4.2	Kesan suhu terhadap peratusan hasil asid linoleik	98
4.4.3	Kesan saiz partikel terhadap peratusan hasil asid linoleik	99
4.5	Perbandingan antara pengekstrakan SC-CO ₂ dan pengekstrakan soxhlet terhadap hasil ekstrak, asid linoleik, aktiviti antioksidan dan aktiviti Antibakteria	102
4.5.1	Perbandingan hasil ekstrak minyak daripada biji <i>S. mahagoni</i>	103
4.5.2	Perbandingan Peratusan Asid Linoleik	106
4.5.3	Perbandingan aktiviti antioksidan	107

4.5.4	Perbandingan aktiviti antibakteria	110
4.6	Cerakin <i>in vitro</i> berkaitan dengan aktiviti penyembuhan luka	111
4.6.1	Keluk pertumbuhan sel fibroblas kulit manusia (HSF1184)	112
4.6.2	Morfologi sel fibroblast (HSF1184)	114
4.6.3	Perbandingan antara SC-CO ₂ dan soxhlet terhadap respon biologi dan sitotoksik menggunakan cerakin MTT	116
4.6.4	Perbandingan SC-CO ₂ dan soxhlet terhadap penutupan luka menggunakan kaedah cerakin goresan	119
4.6.5	Perbandingan menggunakan kaedah cerakin transwell (cerakin invasi sel)	125
4.6.6	Perbandingan menggunakan kaedah penghasilan kolagen	128
5	KESIMPULAN	132
5.1	Kesimpulan	132
5.2	Cadangan	133
	RUJUKAN	135
	Lampiran A – C	154- 169

SENARAI JADUAL

NO. JADUAL	TAJUK	MUKA SURAT
2.1	Produk komersial EFA sedia ada bagi penyembuhan luka di Brazil	16
2.2	Tatanama pengelasan	17
2.3	Ringkasan mengenai keadaan eksperimen bagi pelbagai kaedah pengekstrakan bahan-bahan tumbuhan	22
2.4	Nilai cirian keadaan gas, cecair, dan lampau genting	25
2.5	Keadaan kritikal bagi beberapa pelarut	26
2.6	Kelebihan menggunakan pemprosesan SC-CO ₂ bagi produk semula jadi	37
2.7	Penggunaan pengekstrakan bendalir lampau genting	39
2.8	Fasa-fasa penyembuhan luka	47
2.9	Sel-sel yang terlibat dalam penyembuhan luka	50
2.10	Faktor-faktor pertumbuhan yang terlibat dalam penyembuhan luka	51
2.11	Nutrien yang boleh mempengaruhi penyembuhan luka	54
3.1	Pelan reka bentuk eksperimen bagi Box-Behnken, aras terkod dan sebenar	64
4.1	Penghapusan sisa radikal DPPH dan jumlah kandungan fenolik (TPC) ekstrak biji <i>S. mahagoni</i> pada kadar aliran CO ₂ yang berbeza	81

4.2	Aktiviti antimikrob ekstrak biji <i>S. mahagoni</i> pada kadar aliran CO ₂ yang berbeza	83
4.3	Aras terkod dan tidak terkod bagi pemboleh ubah tak bersandar yang digunakan dalam reka bentuk RSM	85
4.4	Matriks eksperimen dan nilai-nilai tindak balas yang diperolehi	85
4.5	Analisis permukaan tindak balas berdasarkan hasil yang diperolehi daripada SC-CO ₂	87
4.6	Analisis varians (ANOVA) bagi model kuadratik permukaan tindak balas bagi hasil ekstrak daripada biji <i>S. mahagoni</i> yang diperolehi daripada pengekstrakan CO ₂	87
4.7	Analisis tindak balas berdasarkan asid linoleik yang diperolehi daripada pengekstrakan SC-	96
4.8	CO ₂ Analisis varians (ANOVA) bagi model kuadratik permukaan tindak balas bagi asid	96
4.9	linoleik ekstrak daripada biji <i>S. mahagoni</i> Perbandingan proses pengekstrakan bagi peratusan hasil asid linoleik ekstrak biji <i>S.</i>	106
4.10	<i>mahagoni</i> Aktiviti antibakteria bagi ekstrak biji <i>S. mahagoni</i> yang berbeza selepas 24 jam	110

SENARAI RAJAH

NO. RAJAH	TAJUK	MUKA SURAT
2.1	Struktur kimia asid linoleik	13
2.2	Kesan asid linoleik terhadap proses penyembuhan luka	15
2.3	(a) Pokok <i>S. mahagoni</i> , (b) buah <i>S. mahagoni</i> , dan (c) biji <i>S. mahagoni</i>	18
2.4	Kaedah pengekstrakan konvensional dan moden	21
2.5	Gambar rajah fasa tekanan-suhu bagi komponen tulen	24
2.6	Keputusan carian kandungan menggunakan karbon dioksida lampau genting (SC-CO ₂) sebagai istilah carian (1999-2000)	40
2.7	Sel dan faktor-faktor pertumbuhan yang terlibat dalam penyembuhan luka	53
3.1	Rangka kerja operasi kajian aktiviti	59
3.2	Gambarajah skematik bagi unit pengekstrakan bendalir lampau genting (SFE)	63
4.1	Peratusan hasil ekstrak bagi kadar aliran CO ₂ yang berbeza dengan masa pengekstrakan	79
4.2	Plot permukaan hasil minyak daripada <i>S. mahagoni</i> sebagai fungsi tekanan dan suhu pada saiz partikel yang dimalarkan (0.50 mm)	91
4.3	Plot permukaan hasil minyak daripada <i>S. mahagoni</i> sebagai fungsi tekanan dan saiz partikel pada suhu yang dimalarkan (50°C)	91
4.4	Plot permukaan hasil minyak daripada <i>S.</i>	

	<i>mahagoni</i> sebagai fungsi suhu dan saiz partikel pada tekanan yang dimalarkan (25 MPa)	92
4.5	Kromatografi dan spektrum GC-MS daripada minyak biji <i>S. mahagoni</i>	93
4.6	Perbandingan Spektrum jisim dan spektrum jisim piawai bagi 9,12-asid oktadekadienoik (asid linoleik).	94
4.7	Plot permukaan asid linoleik daripada <i>S. mahagoni</i> sebagai fungsi tekanan dan suhu pada saiz partikel yang dimalarkan (0.50 mm)	100
4.8	Plot permukaan asid linoleik daripada <i>S. mahagoni</i> sebagai fungsi tekanan dan saiz partikel pada suhu yang dimalarkan (50°C)	101
4.9	Plot permukaan asid linoleik daripada <i>S. mahagoni</i> sebagai fungsi suhu dan saiz partikel pada tekanan yang dimalarkan (25 MPa)	101
4.10	Perbandingan fizikal hasil ekstrak minyak biji <i>S. mahagoni</i> menggunakan SC-CO ₂ dan soxhlet	105
4.11	Perbandingan peratusan hasil ekstrak minyak biji <i>S. mahagoni</i> menggunakan SC-CO ₂ dan soxhlet	105
4.12	Perbandingan peratusan aktiviti DPPH ekstrak biji <i>S. mahagoni</i> menggunakan SC-CO ₂ dan soxhlet	109
4.13	Keluk pertumbuhan normal bagi sel fibroblas kulit manusia (HSF1184)	113
4.14	Morfologi sel fibroblas manusia (HSF1184) pada (a) hari ke-3 dan (b) hari ke-5	115
4.15	Kesan ekstrak <i>S. mahagoni</i> menggunakan kaedah pengeskrakan SC-CO ₂ dan Soxhlet terhadap kebolehidupan sel fibroblas kulit manusia (HSF1184)	117
4.16	Migrasi sel fibroblas kulit manusia selepas digores	120

4.17	Imej kultur sel fibroblas bagi penutupan luka <i>in vitro</i>	124
4.18	Kesan ekstrak biji <i>S. mahagoni</i> bagi invasi atau migrasi sel fibroblas kulit manusia (HSF1184)	127
4.19	Kesan ekstrak biji <i>S. mahagoni</i> bagi penghasilan kolagen dalam sel fibroblas kulit manusia (HSF1184)	129

SENARAI SINGKATAN

ANOVA	-	Analisis varians
CO ₂	-	Karbon dioksida
DAPI	-	4'6-diamoni-2-phenylindole
MEM	-	Medium Eagle diubah suai
DMSO	-	Dimetil sulfoksida
DNA	-	Asid Dioksiribonukleat
DPPH	-	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine
EGF	-	Faktor pertumbuhan epidermis
FBS	-	Albumin anak lembu
FCR	-	Reagen Folin-Ciocalteu
FFA	-	Asid lemak bebas
FGFs	-	Faktor pertumbuhan fibroblas
G-CSF	-	Faktor perangsang koloni-ganulosit
GC-MS	-	Kromatografi Gas-Spektrometri Jisim
GM-CSF	-	Faktor perangsang koloni-makrofaj granulosit
HGF	-	Faktor pertumbuhan hepatosit
IGF-1	-	Faktor-1 pertumbuhan berupa insulin
IL-1	-	Interleukin-1
KGFs	-	Faktor pertumbuhan keratinosit
MAE	-	Pengekstrakan bantuan gelombang mikro
MTT	-	Methylthiazol tetrazolium
NO	-	Nitrik oksida
OH	-	Hidroksil
PBS	-	Penimbal fosfat bergaram
PDGF	-	Faktor pertumbuhan berasaskan platelet
PLE	-	Pengekstrakan cecair bertekanan
RSM	-	Kaedah tindak balas permukaan

SC-CO ₂	-	Pengekstrakan karbon dioksida lampau genting
SCF	-	Bendalir lampau genting
SFE	-	Pengekstrakan bendalir lampau genting
TGF- α	-	Faktor- α pertumbuhan transformasi
TGF- β	-	Faktor- β pertumbuhan transformasi
TNF	-	Faktor nekrosis tumor
TPC	-	Kandungan jumlah fenolik
VEFG	-	Faktor pertumbuhan endotelium vaskular

SENARAI SIMBOL

A_{control}	-	Penyerapan kawalan
A_{sample}	-	Penyerapan sampel
C	-	Kepekatan sel
D	-	Faktor pencairan
g	-	Gram
mg	-	Miligram
mL	-	Mililiter
μg	-	Mikrogram
N_A	-	Purata nombor sel yang dikira
$^{\circ}\text{C}$	-	Darjah Celcius
P	-	Tekanan
P_c	-	Tekanan kritikal
T	-	Suhu
T_c	-	Suhu kritikal
X_1	-	Tekanan
X_2	-	Suhu
X_3	-	Saiz partikel
Y	-	Jumlah hasil ekstrak

SENARAI LAMPIRAN

LAMPIRAN	TAJUK	MUKA SURAT
A	Rajah – rajah berkaitan kajian	157
B	Kaedah Analitikal	168
C	Penerbitan	172

BAB 1

PENGENALAN

1.1 Latar Belakang Kajian

Kajian farmaseutikal daripada produk semula jadi merupakan salah satu bidang kajian yang paling menarik dan aktif. Ujian-ujian klinikal juga telah membuktikan sesetengah tumbuhan herba mengandungi kandungan farmakologikal aktif yang berkesan merawat penyakit. Oleh sebab kandungan farmakologikal aktif dalam tumbuhan herba selalunya berkepekatan rendah, kebanyakan kajian yang dijalankan menjurus kepada pembangunan kaedah pengekstrakan yang lebih efektif dan selektif dalam pengambilan semula sebatian-sebatian ini daripada bahan mentah (Lang *et al.*, 2001).

Swietenia mahagoni Jacq. (*Meliaceae*) lazimnya tumbuh di kawasan tropika Asia seperti India, Malaysia, Indonesia dan China. Bijinya digunakan dalam perubatan tradisional sebagai rawatan kepada hipertensi, diabetes dan demam malaria, manakala rebusan kulit pokoknya pula digunakan sebagai febrifuj (Chen *et al.*, 2007). Kesan terapeutiknya adalah berkait biji dengan kandungan bahan aktif biologi, asid lemak dan tetranortriterpenoid (Bascal *et al.*, 1997). Guevara *et al.*, (1996) melaporkan biji *S. mahagoni* mempunyai aktiviti antiradang, antimutagen dan antitumor. Ekstrak tumbuhan ini dikenal pasti mempunyai aktiviti antibakteria dan antifungus. Limonoid yang diperolehi daripada *S. mahagoni* mempunyai aktiviti antifungus dan digunakan dalam rawatan diabetes (Alrdahe *et al.*, 2010). Biji *S. mahagoni* merupakan produk pertanian yang bagus dan kaya dengan lemak (64.9%) (Ali *et al.*, 2011).

Asid lemak terdiri daripada rantai hidrokarbonat panjang dan kumpulan karboksil-terminal. Ia mempunyai tiga fungsi utama iaitu membentuk struktur membran biologi, menjadi pelopor kepada pengutus intrasel, dan juga pengoksida, dalam kes ini, menghasilkan adenosina trifosfat (ATP). Ada beberapa jenis asid lemak, tetapi asid linoleik dan asid linolenik memainkan peranan penting dalam rawatan luka. Kedua-dua asid ini tidak disintesis oleh mamalia kerana spesies ini tidak mempunyai enzim delta 9-desaturase; oleh sebab itu kedua-dua asid lemak ini dikenal sebagai asid lemak perlu (Ferreira *et al.*, 2012).

Kaedah konvensional bagi pengekstrakan bahan-bahan tumbuhan termasuklah penyulingan hidro dan pengekstrakan pelarut organik menggunakan kaedah penapisan, pemaseratan atau kaedah Soxhlet. Walau bagaimanapun, kaedah-kaedah ini masih mempunyai kelemahan seperti operasi yang memakan masa dan tenaga kerja selain melibatkan isi padu pelarut berbahaya yang banyak. Namun, minat terhadap kaedah pengekstrakan alternatif yang menggunakan pelarut organik dalam jumlah yang sedikit semakin meningkat berikutan peningkatan pemerolehan pelarut, kos pembuangan, dan sekatan undang-undang (Khajeh, 2011). Oleh sebab itu, pembangunan kaedah pengekstrakan alternatif dengan selektiviti dan keberkesanan yang lebih tinggi adalah sangat diperlukan. Sementara itu, pengekstrakan bendalir lampau genting (SFE) merupakan kaedah pengekstrakan yang mesra alam dan efisien bagi bahan pepejal. Kaedah SFE telah diperkenalkan dan dikaji dengan meluas bagi pemisahan sebatian aktif daripada tumbuhan herba dan tumbuhan-tumbuhan lain (Lang *et al.*, 2001).

Lang dan Wai (2001) mengkaji beberapa kelebihan SFE, termasuk tempoh pengekstrakan yang lebih singkat apabila menggunakan bendalir lampau genting kerana bendalir ini mempunyai kelikatan yang agak rendah dan kemeresapan yang agak tinggi, dan aliran bendalir berterusan menerusi sampel boleh memberikan pengekstrakan yang lengkap, SFE lazimnya dilakukan pada suhu yang rendah dengan kekuatan pelarut bagi bendalir boleh dilaraskan dengan mengubah tekanan dan suhu. Pemisahan zat terlarut dalam bendalir lampau genting boleh dilakukan dengan mudah oleh proses nyahtekanan. Sampel hanya diperlukan dalam kuantiti

yang sedikit, dan tiada atau hanya sedikit pelarut organik yang diperlukan; Malah, pelarut karbon dioksida yang biasa digunakan dalam SFE adalah mesra alam.

Karbon dioksida (CO₂) merupakan gas yang paling lazim digunakan bagi kaedah bendalir lampau genting kerana sifatnya yang tidak toksik, tidak mudah terbakar, kos efektif dan dapat diasingkan daripada ekstrak dengan mudah menggunakan proses nyahtekanan (Casas *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2001). Bahan-bahan pemprosesan bendalir lampau genting tidak memerlukan pensterilan secara berasingan kerana bakteria gram positif dan bakteria gram negatif boleh dinyahaktifkan pada suhu sederhana. Kecerunan tekanan yang tinggi semasa pelepasan tekanan boleh menghasilkan ekstrak yang bebas mikroorganisma dan spora, dengan hayat simpanan yang lebih lama daripada ekstrak pelarut yang biasa (Reinozo *et al.*, 2006). Pada masa ini, SFE menjadi teknik pengekstrakan yang diterima pakai dalam pelbagai bidang.

1.2 Pernyataan Masalah

Swietenia mahagoni digunakan secara meluas sebagai ubat tradisional di beberapa buah negara termasuk Malaysia, Indonesia, China, dan India. Tumbuhan ini digunakan secara tradisional bagi rawatan demam, malaria, diabetes, batuk kering, hipertensi, dan juga sebagai antiseptik. Selain itu, dalam kajian baru-baru ini, laporan menunjukkan ekstrak *S. mahagoni* mampu untuk memberi kesan membaik pulih terhadap tikus diabetes, perencatan pengagregatan platelet, ciri-ciri antimikrob, dan aktiviti anti-HIV (Rahman *et al.*, 2009). *S. mahagoni* mungkin mempunyai aktiviti antioksidan yang kuat (Alrdahe *et al.*, 2010). Ini kerana tumbuhan ini mempunyai pelbagai sebatian bioaktif termasuk alkaloid, terpenoid, antrakuinon, saponin, fenol, flavonoid, minyak meruap, fosfolipid, asid lemak, triterpenoid, tetranortriterpenoid dan 45 limonoid (Bhurat *et al.*, 2011).

Beberapa kajian lepas melaporkan bahawa biji *S. mahagoni* memiliki asid linoleik (LA) yang tinggi. LA merupakan asid lemak perlu dan tidak dihasilkan

dalam tubuh manusia, tetapi boleh diperoleh daripada tumbuhan. LA semakin terkenal dalam industri produk kecantikan kerana manfaatnya kepada kulit. Kajian lain melaporkan kepentingan *S. mahagoni* sebagai antiradang, antijerawat dan penyimpan lembapan apabila diaplikasikan ke atas kulit (Letawa *et al.*, 1998). Dapatan daripada kajian-kajian tersebut menunjukkan yang biji *S. mahagoni* berpotensi untuk menyembuhkan luka pada kulit manusia; oleh itu, ia akan dikaji menggunakan cerakin *in vitro* dalam kajian ini.

Kajian pengestrakan *S. mahagoni* telah dilakukan menggunakan pengestrakan pelarut konvensional dan pengestrakan Soxhlet terhadap aktiviti antimikrob dan antifungus (Ali *et al.*, 2011), dan penentuan aktiviti antioksidan (Hajra *et al.*, 2011). Namun, hasil pengestrakan yang diperoleh adalah rendah dengan sisa pelarut dalam ekstrak yang tinggi. Kelemahan ini dapat diatasi dengan menggunakan kaedah pengestrakan karbon dioksida lampau genting yang tidak toksik, murah, mesra alam, berpotensi memberikan ekstrak dengan kualiti yang tinggi, dan tidak menghasilkan sisa pelarut dalam produk. Oleh itu, kajian ini menumpukan kepada pengoptimuman pengestrakan asid linoleik daripada biji *S. mahagoni* menggunakan kaedah pengestrakan bendalir lampau genting CO₂, dan juga mengkaji keberkesanan ekstrak *S. mahagoni* terhadap penutupan luka pada lapisan sel fibroblas manusia melalui kaedah *in vitro*. Semasa kajian ini dijalankan, pengestrakan biji *S. mahagoni* menggunakan karbon dioksida lampau genting dan penggunaannya dalam penyembuhan luka pada kulit manusia belum pernah dikaji.

1.3 Objektif Kajian

Objektif-objektif bagi kajian ini ialah:

- 1) Untuk menentukan keadaan pemboleh ubah (tekanan, suhu dan saiz partikel) bagi asid linoleik daripada ekstrak biji *S. mahagoni* menggunakan kaedah pengestrakan karbon dioksida lampau genting (SC-CO₂).

- 2) Untuk mengkaji aktiviti penyembuhan luka oleh ekstrak biji *S. mahagoni* menggunakan model *in vitro*.

1.4 Skop Kajian

Skop-skop bagi kajian ini adalah seperti berikut:

- 1) Menjalankan eksperimen untuk menentukan pengekstrakan asid linoleik daripada biji *S. mahagoni* pada julat keadaan terpilih (Tekanan 20-30 Mpa, Suhu 40-60 °C, dan saiz partikel 0.25-0.75 mm) menggunakan SC-CO₂.
- 2) Kajian terhadap kesan-kesan pemboleh ubah proses, iaitu tekanan, suhu dan saiz partikel, ke atas pengekstrakan asid linoleik.
- 3) Analisis asid linoleik dalam ekstrak biji *S. mahagoni* menggunakan kaedah kromatografi gas-spektrometri jisim (GC-MS).
- 4) Penentuan aktiviti antioksidan bagi ekstrak biji *S. mahagoni* menggunakan asai hapus-sisa radikal bebas 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) dan jumlah kandungan fenolik (TPC).
- 5) Penentuan aktiviti antimikrob bagi ekstrak biji *S. mahagoni* menggunakan kaedah resapan cakera.
- 6) Kajian aktiviti penyembuhan luka oleh ekstrak biji *S. mahagoni* menggunakan cerakin MTT bagi analisis sitotoksik, cerakin goresan bagi analisis penutupan luka, cerakin Transwel bagi perpindahan sel dan Cerakin kolagen sircol bagi produksi kolagen.
- 7) Pengekstrakan biji *S. mahagoni* menggunakan kaedah pengekstrakan soxhlet pelarut heksana sebagai perbandingan.

1.5 Sumbangan Penting

Sumbangan utama kajian ini dapat dilihat daripada dua aspek: sumbangan akademik dan profesional. Dari aspek sumbangan akademik, bahagian yang baharu ialah manipulasi keadaan pengekstrakan karbon dioksida lampau genting bagi biji *S. mahagoni* untuk mendapatkan hasil ekstrak yang berketulenan tinggi, berkualiti tinggi dan bebas sisa.

Sumbangan profesional pula adalah penggunaan keadaan SC-CO₂ bagi pengekstrakan sebatian daripada biji *S. mahagoni* dan analisis terhadap ciri-ciri antioksidan, antimikrob dan penyembuhan luka. Dapatan daripada eksperimen ini menunjukkan kesemua ekstrak biji *S. mahagoni* mempunyai ciri-ciri antioksidan, antimikrob, tidak toksik dan boleh merangsang percambahan dan migrasi sel dalam cerakin goresan *in vitro*. dan menunjukkan potensi untuk digunakan dalam rawatan penyembuhan luka. Aspek ini memberikan prospek yang bagus bagi penggunaan *S. mahagoni* sebagai produk berasaskan tumbuhan dalam bidang farmaseutikal dan nutraseutikal. Oleh itu, biji *S. mahagoni* mempunyai potensi yang tinggi untuk dikomersialkan pada masa hadapan.

1.6 Perincian Tesis

Tesis ini dibahagikan kepada lima bab. Bab 1 ialah pengenalan bagi keseluruhan kajian. Bab ini merangkumi latar belakang kajian, pernyataan masalah, objektif kajian, skop kajian dan sumbangan penting kajian. Bab 2 iaitu Tinjauan literatur, menerangkan empat tajuk utama yang ditinjau iaitu sebatian bioaktif dalam tumbuhan, *Swietenia mahagoni*, kaedah pengekstrakan dan penyembuhan luka. Bab 3 (Metodologi) menerangkan bahan-bahan dan metodologi yang digunakan bagi menjalankan kajian. Bab ini menjelaskan secara lengkap kaedah eksperimen iaitu persiapan sampel, pengekstrakan Soxhlet, pengekstrakan SC-CO₂, penentuan asid linoleik, aktiviti antimikrob, aktiviti antioksidan, aktiviti penyembuhan luka (cerakin MTT, cerakin goresan, cerakin Transwell dan penghasilan kolagen). Hasil dan

perbincangan dihuraikan dengan terperinci pada Bab 4. Akhir sekali, Bab 5 menjelaskan kesimpulan dari keseluruhan kajian dan cadangan untuk kajian pada masa hadapan.

RUJUKAN

- Adasoglu, N., Dincer, S. and Bolat, E. (1994). Supercritical Fluid Extraction of Essential Oil From Turkish Lavender Flowers. *J. Supercrit. Fluids*, 7: 93-99.
- Adetutu, A., Morgan, W.A., Corcoran, O. (2011). Ethnopharmacological Survey and in vitro Evaluation of Wound-Healing Plants Used in South-Western Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 137: 50-56.
- Alexander, W.S., Brusewitz, G.H., Maness, N.O. (1997). Pecan Oil Recovery and Composition as Affected by Temperature, Pressure, and Supercritical CO₂ Flow Rate. *J. Food Sci.*, 62: 762
- Ali, M.A., Sayeed, M.A., Islam, M.S., Yeasmin, M.S., Khan, G.R.M.A.M. and Ida, I.M. (2011). Physicochemical and Antimicrobial Properties of *Trichosanthes anguina* and *Swietenia mahagoni* seeds. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.*, 25(3): 427-436.
- Alrdahe, S.S., Abdulla, M.A., Razak, S.A., Kadir, F.A. and Hassandarvish, P. (2010). Gastroprotective Activity of *Swietenia Mahagoni* Seed Extract on Ethanol-Induced Gastric Mucosal Injury in Rats. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 67: 883-887.
- Alvarez-Castellanos, P.P., Bioshop, C.D., Pascual-Villalabos. (2001). Antifungal Activity of The Essential Oils of Flower Heads of Garland Chrysanthemum (*Chrysanthemum coronarium*) against agricultural Pathogens. *Phytochemistry*, 57: 99-102.
- Anneken, D.J., Both, S., Chritoph, R., Fieq, G., Steinberner, U. and Westfechtel, A. (2006). *Fatty Acid in Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim.
- Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., McDonald, S., Rolands, K. (2002). Methods For Testing Antioxidant Activity. *The Analyst*, 127: 183-198.

- Anzel, J. C., Kaynard, A. H., Armstrong, C. A., Olerud, J., Bunnett, N., and Payan, D. (1996). Skin Nervous System Interactions. *J. Invest. Dermatol.* 106: 198-204.
- Aramwit, P., Kanokpanont, S., De-Eknamul, W., Kamei, K. and Srichana, T. (2009). The Effect of Sericin With Variable Amino-Acid Content From Different Silk Strains on The Production of Collagen and Nitric Oxide. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 20:1295-1306.
- Atsatt, P. R. and O'Dowd, D.J. (1976). *Plant Defense Guild Science*, 193: 24-29.
- Banks, J.F. and C.M. Whitehouse. (1997). Electrospray Ionization Mass Spectrometry Of RNA Nucleobases: Implications For Solution Chemistry and Ion Source Operating Conditions. *Int. Mass Spectrom. Ion Processes*, 162: 163-172.
- Bascal, K., Chavez, L., Diaz, I., Espina, S., Javillo, J., Manzanilla, H., Motalban, J., Panganiban, C., Rodriguez, A., Sumpaico, C., Talip, B., and Yap, S. (1997). The Effect os *Swietenia mahagoni* (Mahogany) Seed Extract on Indomethacin-induced Gastric Ulcers in Female Sprague-dawley Rats. *ActaMed. Philipp*, 3: 127-139.
- Bernardo-Gil, G., oneta, C., Antunes, P., Rodriguez, M.F. and Empis, J.M. (2001). Extraction of Lipids From Cherry Seed Oil Using Supercritical Carbon Dioxide. *Eur.Food Res. Technol.*, 212: 170-174.
- Bernardo-Gil, M. G. and Lopes, L. M. C. (2004). Supercritical Fluid Extraction of *Cucurbita ficifolia* Seed Oil. *European Food Research and Technology*, 219: 593-597.
- Bernhoft, A. (2010). Bioactive Compounds In Plants- Benefits And Risks For Man And Animals. The Norwegian Academy of Science and Letters. Printed in Norway AIT Otta.
- Beveridge, T.H.J (2005). Yield and Composition of grape seed oils extracted by supercritical carbon dioxide and petroleum ether: Varietal effects. *J.Agric. Food Chem.*, 53: 1799.
- Bhattacharjee, P., Singhal, R.S. and Tiwari, S.R. (2007). Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Cottonseed Oil. *Journal of Food Engineering*, 79: 892-898.

- Bhurat, M.R., Bavaskar, S. R., Agrawal, A.D. and Bagad, Y.M. (2011). Swietenia mahagoni Linn.-A Phytopharmacological Review. *Asian J. Pharm. Res.* 1(1): 1-4.
- Bors, W., Heller, W., Michel, C. and Saran, M. (1990). Flavonoids As Antioxidants: Determination of Radical-Scavenging Efficiencies. *Methods Enzymol.* 186: 343-355.
- Bozan, B. and Temelli, F. (2002). Supercritical CO₂ Extraction of Flaxseed. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 79: 231.
- Brown, K.L., Phillips, T.J., FRCPC, MD. (2010). Nutrition and Wound Healing. *Clinics in Dermatology*, 28: 432-439.
- Brunner, G. (2005). Supercritical Fluids: Technology and Application to Food Processing. *Journal of food engineering*, 67:21-33.
- Burr, G.O., Burr, M.M., and Miller, E. (1930). On the Nature and Role of The Fatty Acids Essential in Nutrition. *J. Biol. Chem.*, 86(587): 1-9.
- Butler, M. (2004). Animal cell culture and technology. London and New York: Garland Science/BIOS Scientific Publishers.
- Caldera, G., Figueroa, Y., Vargas, M., Santos, D.T. and Marquina-Chidsey, G. (2012). Optimization of Supercritical Fluid Extraction of Antioxidant Compounds from Venezuelan Rosemary Leaves. *International Journal of Food Engineering*, 8 (4).
- Camel (2000). Microwave-Assisted Solvent Extraction of Environmental Samples. *Trends in analytical Chemistry*, 19(4): 229-248.
- Casas, I., Mantell, C., Rodriguez, M., Torres, A., Macias, F.A. and De la Ossa, E.J.M. (2008). Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds from Sunflower Leaves with Carbon dioxide and Water on a Pilot Plant Scale. *J. Supercritical Fluids*, 45: 37-42.
- Cheah, ELC., Chan, LW. And Heng, PW. (2006). Supercritical Carbon Dioxide and Its Application in The Extraction of Active Principles from Plant Materials. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 1:59-71.
- Chen, W.I., Kuo, K.T., Chou, T.Y., Wang, C.H., Wei, Y.H. and Wang, L.S. (2012). The Role of Cytochrome c Oxidase subunit Vain nonsmall Cell Lung Carcinoma Cells: Association with Migration, Invasion and Prediction of distant metastasis. *BMC Cancer*, 12:273.

- Chen, Y.Y., Wang, X.N., Fan, C.Q., Yin, S. and Yue, J.M. (2007). Swiemaogins A and B, Two Novel Limnoids from *Swietenia mahogany*. *Tetrahedron Letters*, 48: 7480-7484.
- Chen, Y.T. and Ling, Y-C. (2000). An Overview of Supercritical Fluid Extraction in Chinese Herbal Medicine: From Preparation To Analysis. *Journal of food and drug analysis*, 8(4): 235-247
- Cheung, P.C.K., Leung, A.Y.H., Ang, P.O. (1998). Comparison of Supercritical Carbon Dioxide and Soxhlet Extraction of Lipids from a Brown Seaweed, *Sargassum hemiphyllum* (Turn.) C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4228-4232.
- Choi, H., Kim, D., Kim, J.W., Ngadiran, S., Sarmidi, M.R., Park C. S. (2010). Labisia pumila extract protects skin cells from photoaging caused by UVB irradiation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 109(3), 291-296.
- Ghosh, S., Besra, S.E., Roy, K., Gupta, J.K., Vedasiromoni, J.R. (2009). Pharmacological Effects of Methanole Extract of *Swietenia mahagoni* Jacq. (Meliaceae) Seed. *Int. J. Green Pharm*, 3: 206-210.
- Cowan, M.M. (1999). Plant Product As Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 564-582.
- Cunha, Ildenize B.S., Sawaya, A.C.H.F., Caetano, F.M., Shimizu, M.T., Marcucci, M.C., Drezza, F.T., Povia, G.S. and Carvalho, P. (2004). Factor That Influence The Yield And Composition Of Barzilian Propolis Extracts. *J. Braz. Chem. Soc.*, 15 (6) :964-970.
- Cvjetko, M., Jokic, S., Levojevic. Z., Vidovic, S., Maric, B. and Radodjic Redovnikovic, L. (2012). Optimization of The Supercritical CO₂ extraction of Oil from Rapeseed Using Response Surface Methodology. *Food Technology and Biotechnology*, 50 (2): 208-215.
- Dauksas, E., Venskutinis, P. R. and Sivik, B. (2002). Supercritical Fluid Extraction of Borage (*Borago officinalis* L) Seeds with Pure CO₂ and Its Mixture With Caprylic Acid Methyl Ester. *J. Supercritical Fluids*, 22: 211.
- David, H. C. (1993). *Essential Histology*. Philadelphia: J.B. Lippincott Company.
- Davis., J. *Animal cell culture: Essential method (1st edition)*. Wiley publication. 2011.
- Dean, J.R. (1993). *Application of Supercritical Fluids in Industrial Analysis*. Boca Raton: Blackie Academic & Professional.

- Diaz-Reinoso, B.D., Moure, A., Dominguez, H., and Parajo, J.C. (2006). Supercritical CO₂ Extraction and Purification of Compounds with Antioxidant Activity. *J.Agric.Food Chem*, 54: 2441-2469.
- Divya, K., Pradeep, H.R., Kumar, K.K., Hari Venkatesh, K.R. and Jyothi, T. (2012). Herbal Drug *Swietenia mahagoni* Jacq.-A Review. *Global J Res. Med. Plants & Indigen. Med.*, 1(10); 557-567.
- Edwin, B.T., Nair, P.D. (2011). In Vitro Evaluation of Wound Healing Property of *Hemigraphis Alternata* (Burm, F.) T. Anders, Using Fibroblast and Endothelial Cells, *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 8: 185-193.
- El Ghalbzouri, A., Gibss, S. and Lamme, E. (2002). Effect of Fibroblasts on epidermal regeneration. *British Journal of Dermatology*, 147: 230-243.
- Elgorashi, E.E., Stafford, G.I., van Staden, J. (2004). Acetylcholinesterase Enzyme Inhibitory Effects Of Amaryllidaceae Alkaloids. *Plant Medica*, 70: 260-262.
- Enoch, S. and Leaper, D.J. (2007). Basic Science Of Wound Healing. *Surgery*, 26(2): 31-37.
- Espinosa-Neira, R., Mejia-Rangel, J., Cortes-Reynosa, P. and Salazar, E.P. (2011). Linoleic Acid Induces an EMT-like Process in Mammary Epithelial Cells MCF10A. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 43: 1782-1791.
- Fang, Q., Yeung, H.W., Leung, H.W. and Huie, C.W. (2000). Micelle-Mediated Extraction And Preconcentration Of Ginsenosides From Chinese Herbal Medicine. *Journal of Chromatography A*, 904: 47-55.
- Faraji, H. and Lindsay, R.C. (2004). Characterization Of The Antioxidant Activity Of Sugars And Polyhydric Alcohols In Fish Oil Emulsions. *J. Agric. Food Chem.*, 52: 7164-7171.
- Favati, F., King, J.W. and Mazzanti, M. (1991). Supercritical Carbon Dioxide Extraction of evening Primrose Oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68:422.
- Ferreira, A.M., Souza, B.M., Rigotti, M.A. and Loureiro, M.R.D. (2012). The Use of Fatty acids in Wound Care: an Integrative review of the Brazilian Literature. *Rev Esc Enferm USP*, 46(3): 745-753.
- Freshney. R., I. (2000). Freshney's Culture of Animal Cells. A Manual of Basic Technique. (2nd ed). Willey Publication.

- Freshney, R., I. (2005). Freshney's Culture of Animal Cells. A Manual of Basic Technique. (5thed). Willey Publication.
- Fronza, M., Heinzmann, B., Hamburger, M., Laufer, S. and Merfort, I. (2009). Determination Of The Wound Healing Effect Of *Calendula* Extract Using The Scratch Assay With 3T3 Fibroblasts. *Journal of Ethnopharmacology*, 126: 463-467.
- Geethaa, S., Surash, R. and Sreenivasan, S. (2009). In vitro Antioxidant and Xanthine Oxidase Inhibitory Activities of Methanolic *Swietenia mahagoni* Seeds Extracts. *Molecules*, 14: 4476-4485.
- Giuseppe, V., Luigia, L., Leonardo, R. and Loredana, C. (2004). Innovative Supercritical CO₂ Extraction of Lycopene from Tomato in The Presence of Vegetable Oil as Co-solvent. *The Journal of Supercritical Fluids*, 29: 87-96.
- Glisic, S., Misic, D., Stamenic, M., Zizovic, I., Asanin, R. and Skala, D. (2007). Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Carrot Fruit Essential Oil: Chemical Composition and Antimicrobial Activity. *Food. Chem.*, 105: 346-352.
- Gomez, A. M., Lopez, C.P. and De La Ossa, E. M. (1996). Recovery of Grape Seed Oil by Liquid and Supercritical Carbon Dioxide Extraction: A Comparison with Conventional Solvent Extraction, *Chem. Eng. J.*, 61:227
- Gomez, A.M. and de la Ossa, E.M. (2002). Quality of Borage Seed Oil Extracted by Liquid And Supercritical Carbon Dioxide, *Chem. Eng.J.*, 88: 103.
- Gonzales-Ramos, A., Cooper, K.D. and Hammerberg, C. (1996). Identification of a human dermal macrophage population responsible for constitutive restraint of primary dermal fibroblast proliferation. *J. Invest. Dermatol.* 106, 305-311.
- Goulet, F., Poitras, A., Rouabhia, M., Cusson, D., Germain, L and Auger, F. A.(1996). Stimulation of human keratinocytes proliferation through growth factors exchanges with dermal fibroblast in vitro. *Burns.* 22(2), 107-112.
- Greenway, DLA. and Dyke, KGH. (1979). Mechanism of the Inhibitory Action of Linoleic Acid on The Growth of *Staphylococcus aureus*. *J. Gen Microbiol.*, 115: 233-245.

- Guevara, A.P., Apilado, A., Sakurai, H., Kozuka, M. and Tokuda, H. (1996). Anti-Inflammatory, Antimutagenic And Antitumor Promoting Activities of Mahogany Seeds, *Swietenia macrophylla* (Meliaceae). *Philippine Journal of Science*, 125: 271-278.
- Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal Plants: Traditions Of Yesterday And Drugs Of Tomorrow. *Molecular Aspects of medicine*, 27: 1-93.
- Hadolin, M. (2001). High Pressure Extraction of Vitamin E- rich Oil From *Silybum marianum*. *Food Chem*, 74: 355.
- Hajra, S., Mehta, A. and Pandey, P. (2011). Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of *Swietenia mahagoni* Seeds. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3: 431-434.
- Halliwell, B. and Whiteman, M. (2004). Measuring Reactive Species and Oxidative Damage In Vivo and Cell Culture: How Should You Do It and What Do The Results Mean?, *Br. J. Pharmacol.*, 142:231
- Hamburger, M., Baumann, D. and Adler, S. (2004). Supercritical Carbon Dioxide Extraction Of Selected Medicinal Plants- Effects Of High Pressure And Added Ethanol On Yield Of Extracted Substances. *Phytochemical Analysis*, 15: 46-54.
- Hansen, HS. And Jensen, B. (1985). Essential Function of Linoleic Acid Esterified in Acylglycosylceramide and Acylceramide in Maintaining The Epidermal Water Permeability Barrier. Evidence From Feeding Studies with Oleate, Linoleate, Arachidonate, Columbinatate and alpha-linoleate. *Biochim Biophys Acta*, 834: 357-363.
- Harisi, R., Kenessey, I., Olah, J.N., Timar, F., Babo, I., Pogany, G., Paku, S. and Jeney, A. (2009). Differential Inhibition of Single and Cluster Type Tumor Cell Migration. *Anticancer Res.*, 29: 2981-2985.
- Herrero, M., Cifuentes, A., Ibanez, E. (2006). Sub- and Supercritical Fluid Extraction of Functional Ingredients from Different Natural Sources: Plants, Food-By-Products, Algae and Microalgae: A review. *Food Chemistry*, 98: 136-148.
- Hinton, A., Ingram, K.D. (2000). Use of Oleic Acid to Reduce The Population of The Bacterial Flora of Poultry Skin. *Journal of Food Protection*, 9: 1282-1286.

- Holley, R.A. and Patel, D. (2005). Improvement In Shelf-Life And Safety Of Perishable Foods By Plant Essential Oils And Smoke Antimicrobials. *Food Microbiology*, 22: 273-292.
- Houghton, P.J., Hylands, P.J., Mensah, A.Y., Hensel, A., Deters, A.M. (2005). *In vitro* Tests and Ethnopharmacological Investigations; Wound Healing as an Example. *Journal of Ethnopharmacology*, 100: 100-107.
- Houghton, P.J., Mensah, A.Y., Iessa, N. and Yang H. (2003). Terpenoids In Buddleja: Relevance To Chemosystematics, Chemical Ecology And Biological Activity. *Phytochemistry*, 64 (2): 385-395.
- Huie, Carmen W. (2002). A Review Of Modern Sample-Preparation Techniques For The Extraction And Analysis Of Medicinal Plants. *Anal.Bioanal. Chem.*, 373: 23-30.
- Kandhro, A., Sherazi, S.T.H., Mahesar, S.A., Bhangar, M.I., Talpur, M.Y. and Rauf A. (2008). GC-MS Quantification of Fatty Acid Profile Including trans FA in The Locally Manufactured Margarine of Pakistan. *Food Chemistry*, 109: 207-211.
- Kemmere, M.J. and Meyer, T. (2005). *Supercritical Carbon Dioxide in Polymer Reaction Engineering*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Weinheim. Germany.
- Khajeh, M. (2011). Optimization of Process Variable for Essential Oil Components from *Satureja hortensis* by Supercritical Fluid Extraction using Box-Behnken Experimental Design. *The Journal of Supercritical Fluids*, 55: 944-948.
- Khajeh, M. (2012). Optimisation of Supercritical Fluid Extraction of Essential Oil Components of *Diplotaenia cachrydifolia*: Box-Behnken Design. *Natural Product Research*, 26(20): 1926-1930.
- King, M.B., Bott, T.R., and Chami, J.H. (1987). Extraction of Biomaterials with Compressed Carbon Dioxide and other Solvents near Critical Condition. *Separation for Biotechnology*, pp 293-319.
- Kitts, D.D. and Weiler, K. (2003). Bioactive Proteins And Peptides From Food Sources. Applications Of Bioprocesses Used In Isolation And Recovery. *Curr.Pharm.* , 9: 1309-1323.

- Kramer, N., Walzi, A., Unger, C., Rosner, M., Krupitza, G., Hengstschlager, M. and Dolznig, H. (2013). *In Vitro* Cell Migration and Invasion Assays. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 752: 10-24.
- Lam, P. K. (1999). Evaluation of human skin substitute for burn wound coverage based on cultured epidermal autograft. Doctor philosophy. The Chinese University of Hong Kong.
- Lang, Q. and Wai, C.M. (2001). Supercritical Fluid Extraction in Herbal and Natural Product Studies- a Practical Review. *Talanta*, 53: 771-782.
- Lee, W.Y., Cho, Y.J., Oh, S.L., Park, J.H., Cha, W.S. and Jung, J.Y. (2000). Extraction Of Grape Seed Oil By Supercritical CO₂ And Ethanol Modifier. *Food Sci. Biotechnol.*, 9, 174-178.
- Lemmonier, F., Gautier, M., Wolfrom, C. and Lemmonier, A. (1980). Metabolic differences between human skin and aponeurosis fibroblasts in culture. *Journal of Cellular Physiology*. 139, 295-300.
- Letawa, C., Boone, M., Pierard, GE. (1998). Digital image Analysis of The Effect of Topically Applied Linoleic Acid on Acne Microcomedones. *Clinical & Experimental Dermatology*, 23(2): 56-58.
- Levine, R. (1973) A nanogram method for hydroxyproline. *Microchim Acta*, 61: 797-800.
- Liang, C.C., Park, A.Y., Guan, J.L (2007). In Vitro Scratch Assay: A Convenient and Inexpensive Method for Analysis of Cell Migration *in vitro*. *Nature Protocols*, 2: 329-333.
- Lin, M.Y. and Yen, C.L. (1999). Antioxidative Ability Of Lactic Acid Bacteria. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 1460-1466.
- Liu, J., Han, B., Liu, G.Li., He, .J. and Yang, G. (2001). Solubility Of The Non-Ionic Surfactant Tetraethylene Glycol N-Laurel Ether In Supercritical CO₂ With N-Pentanol, *Fluid Phase Equilibrium*, 15: 247-254.
- Liu, J., Lin, S., Wang, Z., Wang, C., Wang, E., Zhang, Y. and Liu, J. (2011). Supercritical Fluid Extraction of Flavonoids from *Maydis stigma* and Its Nitrite-Scavenging Ability. *Food and Bioproducts Processing*, 89 (4): 333-339.
- Liu, S., Yang, F., Zhang, C., Ji, H., Hong, P. and Deng, C. (2009). Optimization of process Parameters for Supercritical Carbon Dioxide Extraction of

- Passiflora* Seed Oil by Response Surface Methodology. *The Journal of Supercritical Fluids*, 48: 9-14.
- Lugovic, L., Lipozenovic, J. and Jakic-Razumovic, J. (2001). Atopic dermatitis: immunophenotyping of inflammatory cells in skin lesions. *Int. J. Dermatol.* 40, 489-494.
- Luque de Castro, M.D. and Jimenes-Carmon, M.M. (2000). Where is Supercritical Fluid Extraction Going?. *Trends in analytical Chemistry*, 19(4): 223-228.
- Machmudah, S., Kawahito, Y., Sasaki, M. and Goto, M. (2007). Supercritical CO₂ extraction of Resehip Seed Oil: Fatty Acids Composition and process Optimization. *The Journal of supercritical Fluids*, 41: 421-428.
- Madison KC. (2003). Barrier Function Of The Skin: “Ia Raison Detre” Of The Epidermis (<http://www.nature.com/jid/journal/v121/n2/pdf/5601872a.pdf>). *J Invest Dermatol.* 121(2): 231-241.
- Majid, M.A., Rahman, I.M.M., Shipar, M.A.H., Helal Uddin, M. and Chowdhury. (2004). Physico-Chemical Characterization, Antimicrobial Activity and Toxicity Analysis of *Swietenia mahagoni* Seed Oil. *International Journal of Agriculture & Biology*, 2: 350-354.
- Mancini, I., Defant, A. and Guella, G. (2007). Recent Synthesis of Marine Natural Products with Antibacterial Activity. *Anti-infective Agents in Medicinal Chemistry*, 6: 17-48.
- Mandal, SC., Nandy, A., Pal, MP. and Saha, BP. (2000). Evaluation of Antimicrobial Activity of *Asperagus recemosus* Willd. root. *Phytother.Res*, 14: 118-119.
- Markom, M., Hasan, M., Wan Daud, W., Sigh, H., Jahim, J.M. (2007). Extraction of Hydrolysable Tannins From *Phyllanthus niruni* Linn.: Effects of Solvents and Extraction Methods. *Separation and Purification Technology*, 52: 487-496.
- Marpaung, H. (2003). The Analysis of Fatty Acid Components in The Seeds of *Swietenia mahagoni* Jacq. *Jurnal Sains Kimia*, 7(1): 26-27.
- Martin, P.(1997). Wound healing – aiming for perfect skin regeneration. *Science* 276. 75-81.
- Martinez, J.L. (2008). *Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds*. CRC Press Taylor & Francis Group LLC.
- Martinez, J.L. and Vance, S. W. (2008). *Supercritical Extraction Plants Equipment, Process and Costs*. Jose L. Martinez. *Supercritical Fluid Extraction of*

- Nutraceuticals and Bioactive Compounds*. (25-49). North West, USA: CRC Press.
- Masika, P.J. and Afolayan, A.J. (2002). Antimicrobial Activity Of Some Plants Used For The Treatment Of Livestock Disease In The Eastern Cape, South Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, 83: 129-134.
- McCusker, M.M. and Grant-Kels, J.M. (2010). Healing Fats of The Skin: The Structural and Immunologic Roles of The ω -6 and ω -3 Fatty Acids. *Clinics In Dermatology*, 28: 440-451.
- Mensah, A.Y., Sampson, J., Houghton, P.J., Hylands, P.J., Westbrook, J., Dunn, M.M., Hughes, A., Cherry, G.W. (2001). Effects of *Buddleja Globosa* Leaf and Its Constituents Relevant to Wound Healing, *Journal of Ethnopharmacology*, 77: 219-226.
- Michielin, E. M. Z., Bresciani, L.F.V., Danielski. L., Yunes, R. and Ferreira, S.R.S. (2005). Composition Profile of Horsetail (*Equisetum giganteum* L) oleoresin: Comparing SFE and Organic Solvents Extraction. *Journal of Supercritical Fluid*, 33: 131-138.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R. and van Beek, T.A. (2004). Screening of Radical Scavenging Activity of some Medicinal and Aromatic Plant Extracts. *Food Chemistry*, 85: 231-237.
- Mimura, Y., Ihn, H., Jinnin, M., Asano, Y., Yamane, K., Tamaki, K. (2004). Epidermal Growth Factor Induces Fibronectin Expression in Human Dermal Fibroblasts Via Protein Kinase C δ -Signaling Pathway. *Journal of Investigate Dermatology*, 122: 1390-1398.
- Minuth, W. W., Strehl., R. and Schumacher, K. (2005). Tissue engineering essentials for daily laboratory work. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Moch, D., Schewe, T., Kuhn, H., Schmidt, D. and Buntrock, P. (1990). The Linoleic Acid Metabolite 9Ds-hydroxy-10, 12 (E,2) – Octadecadienoic Acid is a Strong Proinflammatory Mediator in an Experimental Wound Healing Model of The Rat. *Biomed Biochim Acta*, 49(4): 201-207.
- Moldao-martins, M., Palavra A., Beirao da Costa, M.L. and Bernardo-Gil, M.G. (2000). Supercritical CO₂ extraction of *Thymus zygis* L. subsp.Sylvestris aroma. *J.Supercrit.Fluids*, 18, 25-34.

- Montgomery, D.C. (2005). Design and Analysis of Experiments, 6th ed., John Wiley & Son, Inc.
- Mostafa, M., Jahan, I.A., Riaz, M., Hossain, H., Nimmii, I., Miah, A.S. and Chowdhury, J.U. (2011). Comprehensive Analysis of the Composition of Seed Cake and Its Fatty Oil from *Swietenia mahagoni* Jacq. Growing in Bangladesh, *J.Pharm. Sci.*, 10(1): 49-52.
- Mukhopadhyay, M. (2000). Natural Extracts using Supercritical Carbon Dioxide. *CRC Press LLC*, Boca Raton, FL.
- Murray, PR., Baron EJ., Pfaller MA., Tenover, FC. And Tenover, FC. (1995). Manual of Clinical Microbiology, 6th edn Vol-6, ASM, Washington DC, p. 214-215.
- Nagalakshmi, M.A.H., Thangadurai, D., Rao, D.M. and Pullailah, T. (2001). Phytochemical and antimicrobial study of *Churasia tabularis* leaves. *Fitoterapia*, 72: 62-64.
- Ncube, N. S., Afolayan, A. J., Okoh, A. I. (2008). Assessment Technique of Antimicrobial Properties of Natural Compounds of Plant Origin: Current Methods and Future Trends. *African Journal of Biotechnology*, 7(12): 1797-1806.
- Nicolaou, K.C., Chen, J.S., Edmonds, D.J. and Estrada, A.A. (2009). Recent Advances in The Chemistry and Biology of Naturally Occuring Antibiotics. *Angewandte Chemie International Edition English*, 48(4): 660-719.
- Nie, S.P., Li, J.E., Yang, C., Qiu, Z.H. and Xie, M.Y. (2010). Optimization of Supercritical Fluid Extraction of Essential Oil From *Herba Moslae* by Response Surface methodology and Its Chemical Composition Analysis. *Food Science and Technology Research*, 16 (3): 185-190.
- Nik Norulaini, N., Anuar, Q., Omar, A., AlKarkhi, A.F., Setianto, W.B., Fatehah, M., Sahena, F. and Zaidul, I. (2009). Optimization of SC-CO₂ Extraction of Zerumbone from *Zingiber zerumbet* (L) Smith. *Food Chemistry*, 114 (2): 702-705.
- Oliveira, R., Rodrigues, M.F. and Bernardo-Gil, M.G. (2002). Characterization And Supercritical Carbon Dioxide Extraction Of Walnut Oil. *JAOCS*, 79(3): 225-230.

- Ong, ES., Woo, SO. And Yong, YL. (2000). Pressurized Liquid Extraction of Barberine and Aristolochic Acids in Medicinal Plants. *Journal of Chromatography A*, 313: 57-64.
- Ozkal, S.G., Salgin, U. and Yener, M.E. (2005). Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Hazelnut Oil. *J. Food Eng.*, 69: 217
- Ozkal, S.G., Yener, M.E. and Bayindirli, L. (2005b). Response Surface Of Apricot Kernel Oil Yield In Supercritical Carbon Dioxide. *LWT Food Sci. Technol.*, 38, 611-616.
- Ozkal, S.G., Yener, m.E., Salgn, U. and Mehmetoglu, U. (2005a). Response Surfaces Of Hazelnut Oil Yield In Supercritical Carbon Dioxide. *Eur.Food Res. Technol.*, 220, 74-78.
- Palmer, M.V. and Ting, S.S.T. (1995). Application for supercritical fluid technology in food processing. *Food Chemistry*, 52: 345-352.
- Pan, X., Niu, G. and Liu, H. (2001). Microwave-Assisted Extraction Of Tanshinones From *Salvia Miltiorrhiza Bunge* With Analysis By High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography A*, 922: 371-375.
- Pan, X., Niu, G. and Liu, H. (2003). Microwave-Assisted Extraction Of Tea Polyphenols And Tea Caffeine From Green Tea Leaves. *Chemical Engineering and Processing*, 42: 129-133.
- Panda, SP., Haldar PK., Bera, S., Adhikari, S. and Kandar CC. (2010). Antidiabetic and Antioxidant Activity of *Swietenia mahagoni* in Streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm Biol*, 48(9): 974-979.
- Park, E., Lee, S.M., Jung, IK., Lim, Y. and Kim, JH. (2011). Effect Of Genistein On Early-Stage Cutaneous Wound Healing. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 410: 514-518.
- Pereira, P., Bernardo-Gil, M.G., Cebola, M.J., Mauricio, E. and Romano, A. (2013). Supercritical Fluid Extracts With Antioxidant and Antimicrobial Activities From Myrtle (*Myrtus communis* L.) leaves. Response Surface Optimization. *The Journal of Supercritical Fluids*, 83: 57-64.
- Phrompittayarat, W., Putalun, W., Tanaka, H., Jetiyanon, K., Wittaya-areekul, S. and Ingkaninan, K. (2007). Comparison of Various Extraction Methods of *Bacopa monnieri*. *Neresuan University Journal*, 15(1): 29-34.

- Pierce, G. F., Mustoe, T. A., Altrock, B. W., Deuel, T. F. and Thomason, A. (1991). Role of Platelet-derived Growth Factor in Wound Healing. *J. Cell. Biochem.*, 45: 319-326.
- Pokorny, J. (2007). Are Natural Antioxidants Better-And Safer- Than Synthetic Antioxidants? *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109: 629-642.
- Pourmortazavi, S.M., Hajimirsadeghi, S.S. (2007). Supercritical Fluid Extraction in Plant Essential and Volatile Oil Analysis. *Journal of Chromatography A*, 1163: 2-24.
- Proksch E, Brandner JM., and Jensen JM. (2008). The Skin: An Indispensable Barrier. *Exp Dermatol.* 17 (12): 1063-1072.
- Qiuhui, H., Juan, X., Shubing, C. and Fangmei, Y. (2004). Antioxidant Activity of Extracts of Black Sesame Seed (*Sesamum indicum* L.) by Supercritical Carbon Dioxide Extraction. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52: 943-947
- Qj, S., Song, Y., Peng, Y., Wang, H., Long, H., Yu, X., Li, Z., Fang, I, Wu, A., Luo, W., Zhen, Y., Zhou, Y., Chen, Y., Mai, C., Liu, Z. and Fang, W (2012). ZEB2 Mediates Multiple Pathways Regulating Cell Proliferation, Migration, Invasion, and apoptosis in Glioma. *PloS One*, 7: e 38842.
- Ragunath, B., Yamane, S., Inomata, H., Adschiri, T., Arai, K. (1993). Phase Equilibria of Supercritical CO₂ Fatty Oil Component Binary Systems. *Fluid Phase Equilibria*, 83: 183-192.
- Rahman, A., Akther, P., Roy, D. and Das, A.K. (2010). Antinociceptive and Neuropharmacological Activities of *Swietenia mahagoni* (L) Jacq. *Pharmacologyonline*, 3: 225-234.
- Rahman, A.K.M.S. and Chowdhury, A.K.A. (2009). Antibacterial Activity Of Two Limnoids From *Swietenia Mahagoni* Against Multiple-Drug-Resistant (MDR) Bacterial Strains. *J.Nat. Med.*, 63: 41-45.
- Rai, A., Kumargauro, D.P., Bikash, M., Ravindra, B. (2014). Evaluation of Models for Supercritical Fluid Extraction. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 72: 274-287.
- Ramsey, E.D. (1998). Analytical Supercritical Fluid Extraction Techniques, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.

- Ranzato, E., Martinotti, A. and Burlando, B. (2011). Wound Healing Properties Of Jojoba Liquid Wax: An In Vitro Study. *Journal of Ethnopharmacology*, 134: 443-449.
- Rashmi, T., Priya, B., Diksha, K. and Bozena, M. (2008). Structural and Biochemical Changes in Aging Skin and Their Impact on Skin Permeability.
- Reverchon, E., Kaziunas, A. and Marrone, C. (2000). Supercritical CO₂ extraction of hiprose seed oil: Experiments and Mathematical Modeling. *Chem. Eng. Sci.*, 55:2195.
- Reverchon, E., De Marco, I. (2006). Supercritical Fluid Extraction and Fractionation of Natural Matter. *The Journal of Supercritical Fluids*, 38: 146-166
- Rodrigues, H.G., Vinolo, M. A. R., Magdalon, J., Vitzel, K., Nachbar, R.T., Pessoa, A. F. M., Dos Santos, M. F., Hatanaka, E., Calder, P.C and Curi, R. (2012). Oral Administration of Oleic or Linoleic Acid Accelerates The Inflammatory Phase of Wound Healing. *Journal of Investigative Dermatology*, 132: 208-215.
- Rojo, L. E., Villano, C. M., Joseph, G., Schmidt, B., Shulaev, V., Shuman, J.L., Lila, M. A. and Raskin, I. (2010). Wound-Healing Properties of Nut Oil *Pouteria lucuma*. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 9: 185-195.
- Ruthig, DJ and Meckling-Gill, KA. (1999). Both (n-3) and (n-6) Fatty Acids Stimulate Wound Healing in The Rat Intestinal Epithelial Cell Line, IEC-6. *Journal of Nutrition*, 129(10): 1791-1798.
- Sahena, F., Zaidul, I., Jinap, S., Karim, A., Abbas, K., Norulaini, N. and Omar, A. (2009). Application of Supercritical CO₂ in Lipid Extraction- Review. *Journal of Food Engineering*, 95: 240-253.
- Sahena, F., Zaidul, I.S.M., Jinap, S., Karim, A.A., Abbas, K.A., Norulaini, N.A.N. and Omar, A.K.M. (2009). Application Of Supercritical CO₂ In Lipid Extraction. A review. *Journal of food engineering*, 95: 240-253.
- Sahgal, G., Ramanathan, S., Sasidharan, S., Mordi, M.N., Ismail, S. and Mansor, S.M. (2009). Phytochemical and Antimicrobial Activity of *Swietenia mahagoni* Crude Methanolic Seed Extract. *Tropical Biomedicine*, 26 (3) : 274-279.
- Sahgal, G., Ramanathan, S., Sasidharan, S., Mordi, M.N., Ismail, S. and Mansor, S.M. (2009a). In Vitro Antioxidant and Xanthine Oxidase Inhibitory

- Activities of Methanolic *Swietenia mahagoni* Seed Extract. *Molecules*, 14: 4476-4485.
- Sapkale, G.N., Patil, S.M., Surwase, U.S. and Bhatbhage, P.K. (2010). Supercritical Fluid Extraction. *Int.J. Chem.Sci.*, 8(2): 729-743.
- Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., Latha. Y.L. (2011). Extraction, Isolation and Characterization of Bioactive Compounds From Plants Extracts. *African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicine*, 8(1): 1-10
- Sasidharan, S., Darah, I. and Jain, K. (2008). In Vivo And In Vitro Toxicity Study Of *Gracilaria changii*. *Pharm.Biol.*, 46: 413-417.
- Sevimli-Gur, C., Onbasilar, L., Atilla, P., Genc, R., Cakar, N., Deliloglu-Gurhan, I., Bedir, E. (2011). *In vitro* Growth Stimulatory and *In Vivo* Wound Healing Studies Ocycloartane-Type Saponins of *Astragalus* Genus. *Journal of Ethnopharmacology*, 134: 844-850.
- Sharif, K.M., Rahman, M.M., Azmir, J., Mohamed, A., Jahurul, M.H.A., Sahena, F. and Zaidul, I.S.M. (2014). Experimental Design of Supercritical Fluid Extraction – Review. *Journal of Food Engineering*, 124: 105-116.
- Singer, A.J., Clark, R.F. (1999). Cutaneous Wound Healing, *New England Journal & Medicine*, 341: 738-747.
- Somboonwong, J. Thanamitramanee, S., Jariyapongsui, A. and Patumraj, S. (2003). Therapeutic Effects of *Aloe vera* on Cutaneous Microcirculation and Wound Healing in Second Degree Burn Model in Rats. *J. Med. Assoc. Thai*, 83(4): 417-425.
- Sonsuzer, S., Sahim, S. and Yilmaz, L. (2004). Optimization of Supercritical CO₂ Extraction of *Thymbra spicata* Oil. *The Journal of Supercritical Fluids*, 30 (2): 189-199.
- Sovova, H., Kucera, J. and Jez, J. (1994). Rate of the Vegetable Oil Extraction With Supercritical CO₂ –II. Extraction of Grape Oil. *Chem. Eng. Sci.*, 49: 415.
- Stahl, E., Quirin, K.W., Gerard, D. (1988). *Dense Gases for Extraction and Refining*. Springer-Verlag, New York, p. 176.
- Stuart, E. and David J.L. (2007). Basic Science of Wound Healing. *Surgery* 26 (2): 31-37.

- Suntar, I., Akkol, E.K., Lutfun, N. and Satyajit, D.S. (2012). Wound Healing and Antioxidant Properties: Do They Coexist In Plants?. *Free radical Antioxidant*, Vol 2 (2): 1-7.
- Taylor, L.T. (1996). *Supercritical Fluid Extraction*. John Willey & Sons, New York.
- Temelli, F., Saldana, M.D.A., Moquin, P. H. L. and Sun M. (2008). *Supercritical Fluid Extraction of Speciality Oils*. Jose L. Martinez. *Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds*. (51-101). North West, USA: CRC Press.
- Thana, P., Machmudah, S., Goto, M., Sasaki, M., Pavasant, P. and Shotipruk, A. (2008). Response Surface Methodology to Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource Technology*, 99: 3110-3115.
- Turner, C., Whitehand, L.C., Nguyen, T. and McKeon, T. (2004). Optimization Of A Supercritical Fluid Extraction/Reaction Methodology For The Analysis Of Castor Oil Using Experimental Design. *J.Agric. Food Chem.*, 52, 26-32.
- Vallabhapurapu, S. and Karin, M. (2009). Regulation and Function of NF-kappaB Transcription Factors in The Immune System. *Annu Rev Immunol* 27: 693-733.
- Van A.,S.A., Van den Berg, D.J., Tromp,M.N.,Griffioen,D.H., Van Bennekom,W.P., Van der Vijgh, W.J. and Bast, A. (1996). Structural Aspects Of Antioxidant Activity of Flavonoids. *Free Radical Biol. Med.*, 20: 331-342.
- Van der Rest, M., Garrone, R. (1991). Collagen Family of proteins. *FASEB J*, 5: 2814-2823.
- Wang, I., Yang, B., Du, X. and Yi, C. (2008). Optimisation of Supercritical Fluid Extraction of Flavonoids from *Pueraria lobata*. *Food Chemistry*, 108 (2): 737-741.
- Wang, Z., Pan, Z., Ma, H. and Atungulu, G. G. (2011). Extract of Phenolics from pomegranate Peels. *The Open Food Science Journal*, 5: 17-25.
- Wei, L., Yu-jie, F., Yuang-Gang, Z., Mei-Hong, T., Nan, W., Xiao-Lei, L. and Su, Z. (2009). Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Seed Oil From *Opuntia Dillenii* Haw. and Its Antioxidant Activity. *Food Chemistry*, 114:334-339.
- Werner, S. and Simola, H. (2001). Paracrine Regulation of Keratinocytes Proliferation and Differentiation. *Trends Cell Biol.* 11: 143-146.

- Wild, M.D.T., Rahbarnia, A., Kellner, M., Sobotka, M.D.L. and Eberlein, M.D.T. (2010). Basics in Nutrition and Wound Healing. *Nutrition*, 26: 862-866.
- Willcox, J.K., Ash, S. L. and Catignani, G.L. (2004). Antioxidants and Prevention of Chronic Disease, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 44: 275
- Wing Tam, J.C., Lau, K.M., Liu, C.L., To, M.H., Kwok, H.F., Lai, K.K., Lau, C.P., Ko, C.H., Leung, P.C., Fung, K.P. and Lau, C.B.S. (2011). The In Vivo And In Vitro Diabetic Wound Healing Effects Of A 2-Herb Formula And Its Mechanisms Of Action. *Journal of Ethnopharmacology*, 134: 831-838.
- Woisky, R.G. And Salatino A. (1998). Analysis Of Propolis: Some Parameters And Procedures For Chemical Quality Control. *Journal of Agricultural Research*, 37: 99-105.
- Woodley, D.T., O'Keefe, E.J., Prunerias, M. (1985). Cutaneous Wound Healing: A Model for Cell-Matrix Interaction, *Journal of the American Academy of Dermatology*, 12: 420-433.
- Yamini, Y., Khajeh, M., Ghasemi, E., Mirza, M. and Javidnia, K. (2008). Comparison of Essential Oil Compositions of *Salvia mirzayanii* obtained by Supercritical Carbon Dioxide Extraction and Hydrodistillation methods. *Food Chemistry*, 108: 341-346.
- Yu, H., Zhang, L., Li, L., Zheng, C., Guo, L., Li, W. (2010). Recent Development and Future Prospects of Antimicrobial Metabolites Produced by Endophytes. *Microbiological Research*, 165:437-449.
- Yu, J., Dandekar, D.V., Toledo, R.T., Singh, R.K. and Patil, B.S (2007). Supercritical Fluid Extraction of Limonoids and Narigin from Grapefruit (*Citrus paradise* Macf.) Seeds. *Food Chemistry*, 105 (3): 1026-1031.
- Zaidul, I.S.M., Norulaini, N.N.A., Omar, A.K.M. and Smith, Jr., R.I. (2006). Supercritical Carbon Dioxide (SC-CO₂) Extraction and Fractionation of Palm Kernel Oil From Palm Kernel As Cocoa Butter Replacers Blend. *Journal of Food Engineering*, 73 (3): 210-216.
- Zarena, A., Sachindra, N. and Udaya Sankar, K. (2012). Optimisation of Ethanol Modified Supercritical Carbon Dioxide on The Extract Yield and Antioxidant Activity From *Garcinia mangostana* L. *Food Chemistry*, 130 (1): 203-208.
- Zarena, A.S., Sachindra, N.M., and Udaya Sankar, K. (2012). Optimisation of Ethanol Modified Supercritical Carbon Dioxide on The Extract Yield and

Antioxidant Activity from *Garcinia mangostana* L. *Food Chemistry*, 130: 203-208

Zhou, J., Ma, Xm., Qiu, B.H., Chen, J.X., Bian, L. and Pan, I.m. (2013). Parameters Optimization of Supercritical Fluid-CO₂ Extracts of Frankincense Using Response Surface Methodology and Its Pharmacodynamics Effects. *Journal of Separation Science*, 36 (2): 383-390.

Zizovic, I., Stamenic, M. and Orlovic, A. (2007). Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Essential Oils From Plants with Secretory Ducts: Mathematical Modeling on the Micro-scale. *J. Supercritical Fluids*, 37: 338-346.

Zygmunt, B. and Namiesnik, J. (2003). Preparation of Samples of Plant Material for Chromatographic Analysis. *J. Chromatogr. Sci.*, 41: 109-116.