

**LAPORAN AKHIR TAHUN/ TAHUN TERAKHIR*
PENELITIAN TERAPAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
(PTUPT)**



Efikasi Pemberian Topikal Produk Metabolit *Amniotic Membrane Stem Cell* (AMSC), terhadap Ulkus Plantar Kronis Morbus Hansen Berdasarkan Perawatan Standar *Framycetin Gauze Dressing*

Tahun ke 2 dari rencan 2 tahun

Ketua Tim Peneliti :

Dr. dr. Cita Rosita Sigit Prakoeswa, SpKK(K), FINSDV, FAADV

Anggota Tim Peneliti :

Prof. Dr. drh. Fedik Abdul Rantam

dr. Linda Astari, SpKK

DIBIYAI OLEH:

**DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN
KEPADA MASYARAKAT
NOMOR: 122/SP2H/PTNBH/DRPM/2018**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOVEMBER 2018**

**LAPORAN AKHIR TAHUN/ TAHUN TERAKHIR*
PENELITIAN TERAPAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
(PTUPT)**



Efikasi Pemberian Topikal Produk Metabolit *Amniotic Membrane Stem Cell* (AMSC), terhadap Ulkus Plantar Kronis Morbus Hansen Berdasarkan Perawatan Standar *Framycetin Gauze Dressing*

Tahun ke 2 dari rencan 2 tahun

Ketua Tim Peneliti :

Dr. dr. Cita Rosita Sigit Prakoeswa, SpKK(K), FINSDV, FAADV

Anggota Tim Peneliti :

Prof. Dr. drh. Fedik Abdul Rantam

dr. Linda Astari, SpKK

DIBIYAI OLEH:

**DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN
KEPADA MASYARAKAT
NOMOR: 122/SP2H/PTNBH/DRPM/2018**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOVEMBER 2018**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Efikasi Pengaruh Pemberian Topikal Produk Metabolit Amniotic Membrane Stem Cell (AMSC) terhadap Ulkus Plantar Kronis Morbus Hansen Berdasarkan Perawatan Standar Framycetin Gauze Dressing

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : Dr. dr. CITA ROSITA SIGIT PRAKOESWA, S.Ked,
: Sp.KK, Sp.KK

Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
NIDN : 8865610016

Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Dermatologi dan Venereologi
Nomor HP : 0811328199
Alamat surel (e-mail) : drcita.rosita@gmail.com

Anggota (1)

Nama Lengkap : Dr. drh. FEDIK ABDUL RANTAM
NIDN : 0010035907
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Anggota (2)

Nama Lengkap : LINDA ASTARI
NIDN : 0006038108
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Institusi Mitra (jika ada)

Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 100,000,000
Biaya Keseluruhan : Rp 100,000,000

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas
Airlangga



(Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U)
NIP/NIK 195606081986121001

Kota Surabaya, 12-11-2018
Ketua,

(Dr. dr. CITA ROSITA SIGIT PRAKOESWA,
S.Ked, Sp.KK, Sp.KK)
NIP/NIK 196708041997032002

Menyetujui,
Ketua LPI Universitas Airlangga



(Prof. H. Hery Purnobasuki, Drs., Ms.i., Ph.d)
NIP/NIK 196705071991021001





RINGKASAN

Ulkus plantar kronis pada pasien Morbus Hansen (MH) merupakan masalah di bidang kesehatan karena penyembuhannya lama dan membawa dampak psiko-sosial-ekonomi bagi pasien dan keluarganya. Pengobatan standar yang ada saat ini seperti *debridement*, *dressing* (kompres NaCl 0,9%, betadine, *framycetin gauze dressing*/FGD, sodium fucidate 2% ointment), dan antibiotik oral, tampaknya memberikan hasil yang kurang memuaskan. Penyembuhan ulkus yang lama dapat menimbulkan penyulit lainnya, yaitu infeksi pada jaringan yang lebih dalam, yang akan membawa dampak merugikan untuk pasien (amputasi).

Penyembuhan luka merupakan proses kompleks dan memerlukan koordinasi yang baik antar sel-sel yang berperan pada tiap fase penyembuhan luka. Secara umum penyebab penyembuhan luka yang lama adalah kondisi inflamasi yang terjadi terus-menerus pada luka. Kondisi inflamasi ini dapat disebabkan oleh infeksi, maupun iskemia akibat tekanan yang terus menerus pada luka. Peningkatan inflamasi menyebabkan pelepasan sel-sel radang, peningkatan sekresi protease, dan penurunan *growth factor* yang menghambat kemajuan proses penyembuhan luka.

Pada ulkus kronis terdapat disfungsi sel-sel intrinsik (sitokin dan *growth factor*) yang tidak mampu menanggapi signal biokimia dalam proses penyembuhan luka pada fase inflamasi dan proliferasi. Temuan ini menjadi dasar pertimbangan penggunaan terapi berbasis *stem cell* dan *growth factor* sebagai solusi untuk penyembuhan ulkus kronis, karena kemampuan regenerasi yang tinggi dari *stem cell* maupun produk metabolitnya terhadap jaringan yang mengalami cedera.

Vitamin C berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, melindungi terhadap sinar ultra violet, sebagai agen depigmentasi, *aging*, dan secara langsung mempengaruhi sintesis kolagen. Fungsi antioksidan dari vitamin C, yaitu dengan memberikan elektron pada *reactive oxygen species* (ROS). Fungsi – fungsi vitamin C tersebut diduga juga berperan pada proses penyembuhan luka. Penggunaan vitamin C secara topikal konsentrasinya lebih adekuat karena langsung berdifusi pada lapisan keratin dan langsung menstimulasi fibroblas dermis serta pembentukan kolagen.

Vitamin E memiliki kemampuan sebagai antioksidan, anti agregasi dan dapat menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah ringan sehingga dapat mengurangi kerusakan iskemik dari reperfusi yang kurang baik dan merangsang pertumbuhan, stabilisasi jaringan granulasi, serta reepitelisasi. Vitamin E khususnya *α-tocopherol acetat* (α -TA) dapat merangsang ekspresi dari *vascular endothelial growth factor* (VEGF) sehingga meningkatkan angiogenesis dan merangsang produksi *cyclicdenosine monofosfat* (cAMP) yang berperan dalam respon inflamasi dari berbagai jenis sel imun.

Penggunaan *stem cell* dan *growth factor* merupakan salah satu pilihan terapi dalam algoritme manajemen ulkus. Penelitian mengenai aplikasi *stem cell* beserta produk metabolitnya (*growth factor*) pada penyembuhan luka/ulkus masih sangat sedikit, dan sampai saat ini belum ada penelitian mengenai penggunaan produk metabolit *stem cell* pada ulkus kronis pada pasien MH. Pada kesempatan ini penulis akan melakukan studi untuk mengetahui pengaruh pemberian topikal produk metabolit *Amniotic Membrane Stem Cell* (AMSC), campuran produk metabolit AMSC dan

vitamin C, serta campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E pada penyembuhan ulkus plantar kronis pasien MH dibandingkan dengan perawatan luka standar menggunakan FGD. Pada penelitian ini produk metabolit *stem cell* dipilih dari sumber membran amnion karena mempunyai kapasitas proliferasi dan memperbaiki diri sendiri yang jauh lebih tinggi dibandingkan *stem cell* orang dewasa yang diambil dari sumsum tulang, jaringan adipose, dan darah tepi. Penambahan vitamin C dan vitamin E pada produk campuran metabolit AMSC di penelitian ini bertujuan untuk mempercepat proses penyembuhan ulkus plantar kronis. Kandungan vitamin C dan E selain sebagai antioksidan juga diharapkan dapat memodulasi respon inflamasi, merangsang angiogenesis pada fase proliferasi, dan merangsang pembentukan jaringan granulasi, serta meningkatkan epitelisasi yang dapat membantu proses penutupan luka. Pada kelompok kontrol, FGD dipilih sebagai terapi dikarenakan pemakaian FGD yang luas dalam praktek sehari-hari.

Tujuan jangka panjang penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa pemberian topikal produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E, memberikan hasil lebih baik dibandingkan dengan perawatan standar *framycetin gauze dressing* (FGD) pada penyembuhan ulkus plantar kronis MH. Diharapkan melalui penelitian ini dapat memberi dasar teori lebih lanjut untuk pengembangan studi pengaruh pemberian topikal produk metabolit AMSC yang berkaitan dengan penyembuhan ulkus kronis pada kulit manusia, dan mengetahui metode pembuatan gel produk metabolit AMSC yang sederhana dengan biaya minimal, sehingga pada akhirnya dapat menjadi alternatif

terapi dalam manajemen ulkus kronis, khususnya ulkus MH, dengan harga yang terjangkau oleh pasien.

Target khusus penelitian ini adalah memperoleh bukti pemberian topikal produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E, memberikan pengaruh yang lebih baik pada penyembuhan ulkus plantar kronis MH dibandingkan dengan perawatan standar FGD dengan menghitung prosentase penyembuhan luka tiap minggu dan di akhir studi. Selain itu juga akan dievaluasi efek samping dan komplikasi yang dapat ditimbulkan.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental analitik dengan menggunakan metode uji klinis terkontrol, pemilihan pasangan serasi, dan desain paralel yang membandingkan terapi topikal gel produk metabolit AMSC dan FGD pada pasien ulkus plantar kronis MH.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan HidayahNya kepada kami sehingga dapat menyelesaikan penelitian ini. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Keluarga, Kepala Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Tim peneliti dan Seluruh pihak yang telah mendukung serta terlibat baik secara langsung atau tidak langsung dalam penyelesaian penelitian ini.

Penulis menyadari dalam penyusunan penelitian ini masih belum sempurna. Oleh karena itu, Penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun sehingga dapat memberikan manfaat dan menambah wawasan bagi yang membutuhkannya.



DAFTAR ISI

Halaman Judul i

Lembar Pengesahan ii

Ringkasan iii

Prakata vii

Daftar isi viii

Daftar Gambar ix

Daftar tabel x

Bab 1. PENDAHULUAN 1

 1.1 Latar Belakang Masalah 1

 1.2 Rumusan Masalah 5

 1.3 Tujuan Penelitian 5

 1.3.1 Tujuan Umum 5

 1.3.2 Tujuan Khusus 5

 1.4 Manfaat Penelitian 6

 1.4.1 Manfaat Bagi Pengembangan Ilmu Pegetahuan 6

 1.4.2 Manfaat Bagi Pelayanan Kesehatan 6

Bab 2. TINJAUAN PUSTAKA 7

 2.1 Patofisiologi Ulkus Plantar Neuropatik Morbus Hansen 7

2.2 Patofisiologi Ulkus Menjadi Kronis	8
2.3 Terapi Ulkus Kronis	17
2.4 Produk Metabolit AMSC dan Mekanismenya dalam Penyembuhan Ulkus Kronis	9
2.5 Vitamin C	10
2.6 Vitamin E	13
2.7 Isolasi dan Kultur AMSC	15
2.8 Cara Pembuatan <i>Gel</i> Produk Metabolit AMSC	17
2.9 <i>Framycetin Gauze Dressing (FGD)/ Framycetin Tulle Dressing</i>	18
2.10 Perawatan Ulkus, Evaluasi Ulkus, dan Teknis Aplikasi Produk Metabolit AMSC	18
2.11 <i>Dressing</i> Film Transparan	19
Bab 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	21
3.1 Tujuan Penelitian	21
3.1.1 Tujuan Umum	21
3.1.2 Tujuan Khusus	21
3.2 Manfaat Penelitian	22
3.2.1 Manfaat Bagi Pengembangan Ilmu Pengetahuan	22
3.2.2 Manfaat Bagi Pelayanan Kesehatan	22

Bab 4. METODE PENELITIAN	23
4.1 Populasi, Sampel, dan Besar Sampel Penelitian	23
4.1.1 Populasi penelitian	23
4.1.2 Sampel penelitian	23
4.1.3 Besar sampel penelitian	23
4.2 Tahapan/ Alur Penelitian	25
4.3 Tempat Penelitian	26
4.4 Peubah yang Diamati/ Diukur	26
4.5 Subyek Penelitian	26
4.6 Rancangan Penelitian	27
4.7 Prosedur Penelitian	27
4.8 Teknik Pengumpulan dan Analisa Data	28
4.8.1 Teknik Pengumpulan Data	28
4.8.2 Pengolahan Data	28
 BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI.....	 29
5.1 Perlakuan dengan Pemberian Gel Produk Metabolit AMSC (gel PM-AMSC).....	29
5.2 Perlakuan dengan Pemberian Gel Produk Metabolit AMSC + vitamin E.....	35
5.3 Perlakuan dengan Pemberian Gel Produk Metabolit AMSC + vitamin C.....	40

BAB 6. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA.....	46
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol.....	51
LAMPIRAN 2. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC + vitamin E	80
LAMPIRAN 3. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC + vitamin C	82
LAMPIRAN 4. Artikel ilmiah.....	83
LAMPIRAN 5. HKI.....	84

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Algoritma manajemen ulkus.....	9
--	---

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1. Karakteristik dasar subjek penelitian pasien ulkus plantar kronis MH	29
Tabel 5.2. Lokasi ulkus kronis MH pada plantar pedis subjek penelitian.....	31
Tabel 5.3. Prosentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH pada subjek.....	31
Tabel 5.4. Kemajuan ulkus secara klinis pada akhir penelitian	33
Tabel 5.5. Karakteristik subjek penelitian yang ulkusnya sembuh.....	33
Tabel 5.6 Karakteristik dasar subjek penelitian pasien ulkus plantar kronis MH di Divisi Morbus Hansen URJ Kesehatan Kulit dan Kelamin RSU Dr. Soetomo Surabaya.....	36
Tabel 5.7. Lokasi ulkus plantar kronis MH pada subjek penelitian.....	37
Tabel 5.8 Prosentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH pada subjek penelitian	38
Tabel 5.9. Kemajuan klinis ulkus pada akhir penelitian.....	39
Tabel 5.10 Karakteristik dasar subjek penelitian pasien ulkus plantar kronis MH.....	41
Tabel 5.11. Lokasi ulkus plantar kronis MH pada subjek penelitian	42
Tabel 5.12 Prosentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH pada subjek Penelitian.....	43
Tabel 5.13. Kemajuan klinis ulkus pada akhir penelitian	44



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Morbus Hansen (MH) adalah penyakit infeksi kronis yang disebabkan *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*), yang secara primer menyerang dan mengakibatkan kerusakan saraf perifer berupa gangguan sensitifitas, motoris dan otonom pada saraf yang terinfeksi. Sebanyak 10-20% pasien MH mengalami ulkus neuropatik akibat kerusakan saraf perifer (Barreto JG, 2010; Bhatt YC, 2009; Gahalaut P, 2005). Lokasi ulkus MH umumnya pada plantar pedis yang disebut ulkus plantar, namun dapat juga terjadi di luar plantar pedis atau disebut juga ulkus ekstra plantar (Srinivasan H, 2004).

Proses penyembuhan luka secara normal bergantung pada beberapa *growth factor* dan sitokin yang berinteraksi dengan sel dan matriks pada beberapa fase. Apabila terdapat pemanjangan dari fase-fase tersebut maka akan terjadi luka yang kronis (Sharma RK, 2012). Permasalahan tersebut terjadi pada pasien MH dengan ulkus plantar kronis yang dengan pengobatan standar seperti *debridement*, *dressing* (kompres NaCl 0,9%, betadine, *framycetin gauze dressing*, *sodium fucidate 2% ointment*), dan antibiotik oral hasilnya kurang memuaskan (Robson M, 1997; Suryanarayan S, 2014; Hatano K, 2011). Beberapa penelitian dilakukan menggunakan *growth factor* untuk pengobatan luka kronis, salah satunya dengan pengaplikasian secara lokal VEGF dimana fungsinya untuk memicu angiogenesis, akan tetapi hasilnya tidak memuaskan. Diduga dibutuhkan kombinasi beberapa *growth factor* dan sitokin agar proses penyembuhan lebih optimal. Salah satu terapi yang memungkinkan untuk hal tersebut adalah terapi dengan *mesenchymal stem cells* (MSC) (Tamama K, 2012).

Mesenchymal stem cells (MSCs) merupakan sel progenitor multipoten dengan kemampuan untuk memperbaharui diri sendiri dan dapat berdiferensiasi menjadi jaringan konektif, tulang, kartilago, adiposit, otot, sel endothelial, hepatosit, sel neuron, dan sel epitel. Beberapa studi menyebutkan bahwa transplantasi MSC berefek positif pada proses penyembuhan pada ulkus diabetes, efek ini yaitu memicu proliferasi sel, sintesa kolagen, sekresi beberapa *growth factor*, kontraksi luka, neovaskularisasi, dan migrasi sel-sel pada luka. MSC paling sering digunakan pada studi klinis karena beberapa keunggulannya yaitu kemampuan diferensiasinya, mudah dalam pengumpulan, dan imunogenisitas yang rendah (Yang M, 2013). Sekresi *growth factors* dan sitokin oleh MSC ini terbukti dapat menginduksi angiogenesis, mengurangi inflamasi, dan memicu migrasi fibroblas dan produksi kolagen. Penggunaannya dapat diberikan secara langsung dengan transplantasi sel, maupun cara yang lebih aman yaitu menggunakan mediumnya yang banyak mengandung molekul-molekul bioaktif (Tamama K, 2012).

Amniotic membrane stem cell (AMSC) merupakan salah satu sumber MSC dengan kapasitas proliferasi tinggi, multi-potensi, mempunyai aktifitas imunomodulator, resiko imunogenisitas rendah (hipoalergenik), dan tidak berpotensi menimbulkan tumor seperti pada sel induk embrional. Salah satu mekanisme *stem cell* dalam proses penyembuhan jaringan terkait kemampuan menghasilkan *growth factor* dan sitokin. Dalam kondisi *in vitro*, molekul metabolit ini dapat ditemukan dalam medium kultur *stem cell*, sehingga medium kultur *stem cell* dapat dimanfaatkan sebagai modalitas pengobatan dalam proses regenerasi sel (Skardal A, 2012; Rennie K, 2012; Jayaraman P, 2013).

Keunggulan produk metabolit *stem cell* dibandingkan *stem cell* adalah dari segi keamanan pasien, dimana produk metabolit *stem cell* sudah tidak mengandung *stem cell*, sehingga tidak beresiko terjadi pertumbuhan jaringan yang berlebihan (tumor/ keganasan). Medium kultur

stem cell dapat diperoleh lebih mudah, dan produk metabolit *stem cell* dapat diproduksi lebih banyak dengan biaya lebih minimal dibandingkan *stem cell*-nya. Pembuatan sediaan topikal produk metabolit *stem cell* lebih mudah dibandingkan *stem cell*-nya, karena untuk membuat sediaan topikal *stem cell* diperlukan bahan pembawa tertentu supaya *stem cell* tetap hidup. Kekurangan produk metabolit *stem cell* dibandingkan *stem cell*-nya adalah kemampuan *stem cell* dalam regenerasi sel jauh lebih besar dibandingkan produk metabolitnya (Rennie K, 2012; Jayaraman P, 2013).

Ulkus kronis MH mengganggu proses penyembuhannya pada fase inflamasi dan proliferasi. Pada fase inflamasi, proses penyembuhan luka terganggu akibat terjadinya inflamasi yang terus-menerus, disebabkan oleh stres jaringan atau infeksi. Gangguan penyembuhan luka pada fase proliferasi disebabkan kurangnya *growth factor* dan sitokin, akibat disfungsi saraf otonom. Mekanisme kerja produk metabolit *stem cell* dalam proses penyembuhan luka adalah pada fase inflamasi dan proliferasi. Terjadinya infeksi pada fase inflamasi menyebabkan sitokin yang terkandung dalam produk metabolit *stem cell* akan menginduksi mediator-mediator radang untuk mengatasi infeksi. Pada inflamasi yang disebabkan stres jaringan, sitokin dalam produk metabolit *stem cell* akan menginduksi mediator-mediator anti inflamasi. Pada fase proliferasi yang terganggu, produk metabolit *stem cell* mengandung *growth factor* yang berfungsi menginduksi sel-sel di tepi dan dasar ulkus untuk berproliferasi sehingga ulkus menutup. (Robson M, 1997; Suryanarayan S, 2014; Jayaraman P, 2013).

Beberapa studi membuktikan bahwa terjadi peningkatan kadar enzim proteolitik dan sitokin, serta spesies oksigen reaktif (ROS) pada luka kronis yang menunda proses penyembuhan luka, menghambat pembentukan jaringan granulasi, dan epitelisasi. Antioksidan diyakini dapat memperbaiki luka dengan mengurangi kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Vitamin C merupakan vitamin larut air, kegunaannya dibidang dermatologi sebagai agen

depigmentasi, antioksidan, dan sintesis kolagen telah dikenal dengan luas. Fungsi – fungsi tersebut dipercaya juga dapat bermanfaat pada penyembuhan luka. Fungsi vitamin C sebagai anti oksidan berguna dalam menetralkan *reactive oxygen species* (ROS) yang terdapat pada ulkus kronis. Vitamin C juga secara langsung menstimulasi sintesis kolagen sehingga bermanfaat pada proses penyembuhan luka (Singh P, 2012; Nuschke A, 2014).

Vitamin E merupakan antioksidan alami nonenzimatik dan larut lipid paling penting dalam jaringan manusia yang diserap oleh kulit dengan baik. memodulasi respon inflamasi, merangsang angiogenesis pada fase proliferasi, dan merangsang pembentukan jaringan granulasi, serta meningkatkan epitelisasi yang dapat membantu proses penutupan luka. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa vitamin E, khususnya *α-tocopherol acetat* memberikan hasil yang baik dalam proses penyembuhan luka (Havlik RJ, 1997; Thiele J , 2007).

Sampai saat ini belum ada studi yang membandingkan produk metabolit AMSC dengan perawatan standar *framycetin gauze dressing* (FGD), penggunaan campuran produk metabolit AMSC dengan vitamin C maupun penggunaan campuran produk metabolit AMSC dengan vitamin E pada ulkus kronis MH. Pada studi ini dipilih produk metabolit AMSC karena kemampuan AMSC yang tinggi dalam menghasilkan *growth factor* dan sitokin dibandingkan sumber *stem cell* lainnya. Selain itu pada studi ini juga akan diberikan penambahan vitamin C dan vitamin E pada produk metabolit AMSC. Penggunaan produk metabolit dan vitamin C, maupun produk metabolit dan vitamin E ini diharapkan dapat mempercepat penyembuhan luka. Dalam penelitian ini digunakan *Framycetin gauze dressing* (FGD) sebagai terapi pada kelompok kontrol, dikarenakan pemakaiannya yang luas dalam praktek sehari-hari. Pada kesempatan ini penulis akan melakukan studi untuk mengetahui pengaruh pemberian topikal produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran

produk metabolit AMSC dan vitamin E pada penyembuhan ulkus plantar kronis pasien MH dibandingkan dengan perawatan luka standar menggunakan FGD.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah pemberian topikal gel produk metabolit AMSC, campuran topikal produk metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E mempercepat penyembuhan ulkus plantar kronis MH dibandingkan perawatan luka standar dengan FGD?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Menjelaskan mekanisme percepatan penyembuhan terhadap pemberian topikal produk metabolit AMSC, campuran topikal produk metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran topikal produk metabolit AMSC dan vitamin E, pada ulkus plantar kronis Morbus Hansen berdasarkan perawatan luka standar dengan FGD.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Membuktikan tingkat prosentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH setiap minggu pada kelompok perlakuan yang mendapat terapi topikal dengan produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E.
2. Membuktikan tingkat prosentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH setiap minggu pada kelompok kontrol yang mendapat terapi dengan FGD.
3. Membandingkan prosentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH setiap minggu dan di akhir studi, antara kelompok yang mendapat produk metabolit AMSC, campuran produk

metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E dengan kelompok yang mendapat FGD.

4. Mengevaluasi efek samping yang mungkin terjadi akibat pemberian topikal produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E, serta FGD.
5. Mengevaluasi komplikasi yang mungkin terjadi akibat pemberian topikal produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E, serta FGD.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Bagi Pengembangan Ilmu Pengetahuan

1. Memperoleh bukti pengaruh pemberian topikal produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E, lebih baik dibandingkan perawatan standar dengan FGD pada penyembuhan ulkus plantar kronis MH.
2. Memberi dasar teori lebih lanjut untuk pengembangan penelitian pengaruh pemberian topikal produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E, yang berkaitan dengan penyembuhan ulkus kronis pada kulit manusia.

1.4.2. Manfaat Bagi Pelayanan Kesehatan

Diharapkan kedepannya didapatkan formulasi produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E, dengan harga lebih murah sehingga terjangkau oleh masyarakat yang dapat digunakan sebagai terapi topikal ulkus plantar kronis MH.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Patofisiologi Ulkus Plantar Neuropatik Morbus Hansen

Ulkus plantar neuropatik pada pasien MH disebabkan kerusakan saraf perifer akibat infeksi *M. Leprae*, maupun akibat reaksi MH, dimana terjadi gangguan saraf sensoris, otonom, dan motoris. Defek terhadap fungsi saraf sensoris mengakibatkan hilangnya rasa raba, sensasi nyeri, dan suhu pada kulit yang diinervasi saraf tersebut (nociceptor terganggu). Pasien tidak dapat merasakan nyeri tajam apabila terkena trauma sehingga pasien tidak berusaha menghindari sumber trauma. Pasien juga tidak dapat merasakan nyeri tumpul apabila kulit telapak kakinya (terutama pada penonjolan tulang) mengalami iskemia akibat tertumpu berat badannya secara terus-menerus (berdiri lama atau berjalan lama), sehingga pasien tidak berusaha untuk berganti posisi berdiri atau mengistirahatkan kakinya (duduk). Proses iskemik yang terjadi terus-menerus menyebabkan jaringan yang tertekan kekurangan pasokan darah yang membawa oksigen dan nutrisi, sehingga lama-lama terjadi kerusakan / kematian jaringan yang irreversibel, dan akhirnya terbentuk ulkus (Srinivasan H, 2004)

Gangguan saraf otonom mengakibatkan gangguan sekresi kelenjar keringat, sehingga kulit yang mengalami gangguan saraf otonom sangat kering dan mudah pecah (terbentuk fisura). Apabila fisura pada kulit mengalami infeksi sekunder akibat perawatan kulit yang tidak baik, maka fisura yang terinfeksi akan melebar dan menjadi ulkus. Gangguan saraf motoris pada kaki mengakibatkan paralisis muskulus intrinsik plantar, sehingga kulit yang ada penonjolan tulang di bawahnya mengalami tekanan / stres yang tinggi pada saat berjalan atau berdiri (walking stresses). Hal ini menyebabkan terjadinya iskemia pada kulit yang tertekan. Apabila proses penekanan kulit berlangsung terus-menerus atau dalam jangka waktu lama,

dapat mengakibatkan terbentuknya ulkus. Tekanan yang berlebihan menyebabkan respon hipertrofik pada sel keratinosit lokal yang menyebabkan hiperkeratosis lokal, sehingga terbentuk kalus pada bagian telapak kaki yang menerima beban berlebih dan yang sering mendapat gesekan. Kalus ini dapat retak atau pecah sehingga menimbulkan ulkus (Puri V, 2012).

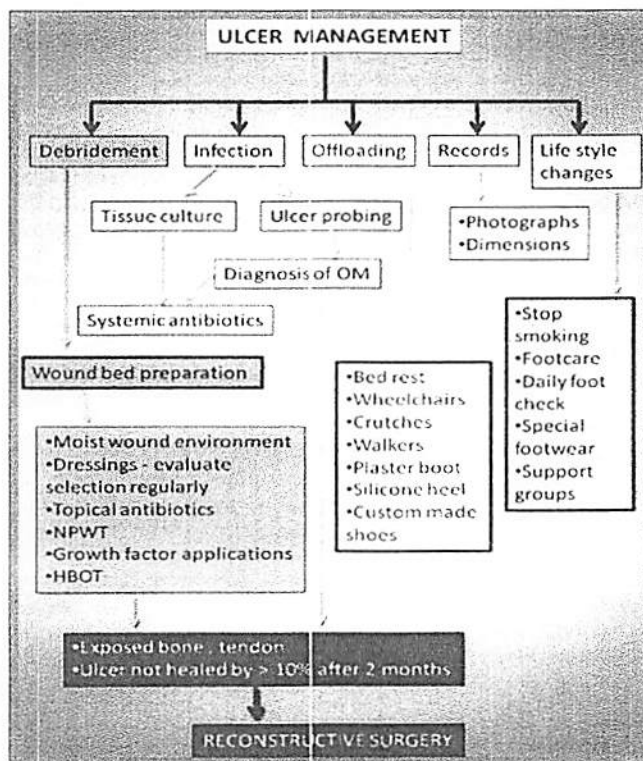
2.2 Patofisiologi Ulkus Menjadi Kronis

Penyembuhan luka merupakan proses yang kompleks dan memerlukan koordinasi yang baik antar sel-sel yang berperan pada tiap-tiap fase penyembuhan luka. Apabila tahapan dalam fase penyembuhan luka ini tidak berjalan dengan baik, maka luka akan mengalami gangguan atau keterlambatan dalam proses penyembuhan luka, sehingga menjadi ulkus kronis. Secara umum penyebab penyembuhan luka yang lama adalah kondisi inflamasi yang terus-menerus pada luka. Kondisi inflamasi ini dapat disebabkan oleh infeksi, maupun iskemia akibat tekanan yang terus menerus pada luka. Peningkatan inflamasi menyebabkan pelepasan sel-sel radang (neutrofil, monosit, makrofag), peningkatan sekresi protease, dan penurunan *growth factor* (PDGF, VEGF, EGF, TGF- β , FGF), yang menghambat kemajuan proses penyembuhan luka (Ennis WJ, 2013; Nuschke A, 2013).

Penjelasan lain untuk patofisiologi ulkus kronis adalah adanya disfungsi sel-sel intrinsik (sitokin dan *growth factor*) yang tidak mampu menanggapi signal biokimia dalam proses penyembuhan luka pada fase inflamasi dan proliferasi. Temuan ini menjadi dasar pertimbangan penggunaan terapi berbasis *stem cell* dan *growth factor* sebagai solusi untuk penyembuhan ulkus kronis, karena kemampuan regenerasi yang tinggi dari *stem cell* maupun produk metabolitnya terhadap jaringan yang mengalami cedera (Ennis WJ, 2013; Nuschke A, 2013).

2.3 Terapi Ulkus Kronis

Prinsip manajemen ulkus plantar kronis adalah: (1) menghilangkan jaringan nekrotik dengan debridement, (2) mengurangi tekanan mekanik pada ulkus dengan imobilisasi, (3) mengatasi infeksi yang ada pada luka dengan antibiotik sistemik yang adekuat, (4) mengaplikasikan dressing luka yang sesuai, (5) pemberian sediaan topikal *growth factor* (Ennis WJ, 2013).



Gambar 1. Algoritma manajemen ulkus (Puri V, 2012)

2.4 Produk Metabolit AMSC dan Mekanismenya dalam Penyembuhan Ulkus Kronis

Ulkus kronis merupakan ulkus yang mengalami keterlambatan dalam proses penyembuhan luka dikarenakan adanya inflamasi terus-menerus dan kurangnya faktor-faktor intrinsik (*growth factor* dan sitokin) yang diperlukan dalam proses penyembuhan (Maxson S, 2012; Jayaraman P, 2013). Sekresi *growth factor* dan sitokin dalam proses penyembuhan luka

diatur oleh MSC endogen, yang merupakan sel induk multipoten yang dapat mengatur respon imun dan inflamasi, serta memperbaiki diri. Produk perawatan luka idealnya mengandung *growth factor* dan sitokin yang diperlukan dalam proses penyembuhan luka. Peran alami MSC yang penting dalam proses penyembuhan luka ini menimbulkan pemikiran untuk mencoba mengaplikasikan MSC secara eksogen yang diperoleh dari kultur *stem cell* manusia (Maxson S, 2012).

Sumber MSC antara lain membran dan cairan amnion bayi, darah tali pusat, sel darah dari sumsum tulang, jaringan adipose, dan sel darah dari pembuluh darah perifer. *Stem cell* dari membran dan cairan amnion mempunyai kapasitas proliferasi dan memperbaiki diri sendiri yang jauh lebih tinggi dibandingkan *stem cell* orang dewasa yang diambil dari sumsum tulang, jaringan adipose, dan darah tepi (Skardal A, 2012; Rennie K, 2012).

Amniotic membrane stem cell (AMSC) mempunyai kapasitas proliferasi yang tinggi, multi-potensi, mempunyai aktifitas imunomodulator, resiko imunogenisitasnya rendah, dan tidak berpotensi menimbulkan tumor seperti pada sel induk embrional. *Stem cell* juga menghasilkan *growth factor* dan sitokin yang diperlukan dalam proses penyembuhan jaringan. Dalam kondisi *in vitro*, molekul-molekul ini dapat ditemukan dalam medium kultur *stem cell* (produk metabolit *stem cell*), sehingga medium kultur *stem cell* dicoba dimanfaatkan untuk modalitas terapi dalam proses regenerasi sel. Sitokin dalam produk metabolit *stem cell* bekerja menginduksi sel-sel radang bermigrasi ke tempat infeksi untuk mengatasi infeksi yang ada (efek imunomodulator dan antimikroba). *Growth factor* dalam produk metabolit *stem cell* akan menginduksi angiogenesis, migrasi fibroblast, pembentukan jaringan granulasi, dan epitelisasi (Skardal A, 2012; Rennie K, 2012; Jayaraman P, 2013).

2.5 Vitamin C

Vitamin C merupakan salah satu antioksidan alami yang didapatkan dengan mudah di

alam. Vitamin C merupakan vitamin yang larut dalam air. Vitamin C di alam banyak ditemukan dalam bentuk *L-ascorbic acid (LAA)* dan *D-ascorbic acid*. Absorpsi per oral terbatas karena oleh karena mekanisme transportasinya kecuali dalam dosis besar. Pemakaian vitamin C peroral hanya sedikit meningkatkan konsentrasi vitamin C pada kulit, dan penggunaan secara topikal lebih efektif dalam meningkatkan kadar pada kulit (Telang PS, 2010).

Vitamin C telah banyak digunakan dalam bidang dermatologi sebagai antioksidan, melindungi terhadap sinar UV, sebagai agen depigmentasi, dan *aging*. Vitamin C berfungsi sebagai antioksidan pada kulit dari *reactive oxygen species (ROS)*. Ketika kulit terpapar sinar matahari akan terbentuk ROS. ROS dapat mempengaruhi DNA sel, membran sel dan protein-protein sel termasuk kolagen. ROS dapat memicu transkripsi dari *factor activator protein-1 (AP-1)* yang meningkatkan produksi *matrix metalloproteinase (MMP)* sehingga terjadi degradasi kolagen. Vitamin C menetralkan ROS dengan memberikan elektron untuk menetralkan radikal bebas tersebut (Telang PS, 2010).

Vitamin C juga dapat berfungsi dalam biosintesis kolagen. Vitamin C bertindak sebagai kofaktor dari enzim *prolyl* dan *lysyl hydroxylase*, dimana enzim tersebut berfungsi terhadap stabilisasi dan *cross-linking* dari molekul kolagen. Selain itu vitamin C menstimulasi lipid peroksidase sehingga produksi malondialdehid yang menstimulasi ekspresi kolagen. Vitamin C juga secara langsung mengaktifkan dan menstabilisasi mRNA prokolagen yang mengatur sintesa kolagen (Telang PS, 2010).

Vitamin C dalam bidang dermatologi dapat berfungsi sebagai agen depigmentasi, dengan memutuskan jalur melanogenesis. Vitamin C berinteraksi dengan menghambat aktivitas dari enzim tirosinase sehingga mengurangi pembentukan melanin. Fungsi lainnya adalah sebagai anti inflamasi dengan menghambat NFkB, dimana NFkB berperan dalam aktivasi beberapa sitokin-sitokin pro inflamatori seperti TNF-alfa, IL1, IL6 and IL8 (Telang PS, 2010).

Fungsi anti inflamasi ini salah satunya digunakan pada penelitian oleh Alster dan West dengan menggunakan vitamin C untuk eritema setelah penggunaan laser CO₂ *resurfacing* (Farris PK, 2005).

Fungsi vitamin C sebagai antioksidan, pembentukan kolagen, dan anti inflamasi dapat berpengaruh terhadap penyembuhan luka. Penggunaannya secara per oral telah terbukti dalam mempercepat penyembuhan luka. Vitamin C topikal telah digunakan pada ulkus kornea, pada penelitian oleh Roswell dan kawan kawan pemberian 10% larutan asam ascorbat pada luka bakar alkali pada kornea terbukti mencegah terjadinya ulkus kornea pada kelompok perlakuan, sedangkan pada kelompok kontrol 25% terjadi ulkus kornea. Penelitian lainnya oleh Parul dan kawan kawan, menggunakan asam ascorbat 10% topikal pada ulkus kornea yang refrakter juga memberikan hasil yang baik pada pasien (Pfister RR, 1982; Singh P, 2012).

Penggunaan vitamin C pada luka dilakukan oleh Lima dan kawan kawan, menggunakan asam ascorbat 10% krim pada tikus yang dilukai. Secara histologis pada kelompok kontrol didapatkan jumlah makrofag yang lebih kecil, neovaskularisasi yang lebih banyak, jumlah fibroblas lebih banyak, dan serat-serat kolagen yang lebih tebal daripada kelompok kontrol. Fungsi vitamin C pada proses penyembuhan luka berlangsung pada seluruh fase. Ketika terjadi luka akan desekresi beberapa mediator-mediator inflamasi, mediator-mediator tersebut akan menarik neutrofil dan makrofag pada area luka untuk membunuh kontaminasi bakteri, proses inflamasi tersebut juga menghasilkan ROS yang juga digunakan dalam membunuh bakteri, akan tetapi produksi ROS berlebih juga dapat merusak sel. Vitamin C berfungsi sebagai antioksidan dengan menetralisasi ROS. Fungsi antiinflamasi dari vitamin C ini dibuktikan dengan berkurangnya masa penyembuhan luka pada kelompok coba. Neovaskularisasi pada kelompok

coba juga meningkat. Penggunaan vitamin C secara topikal juga mempertahankan konsentrasi yang adekuat, sehingga langsung berdifusi pada lapisan keratin dan langsung menstimulasi fibroblas dermis serta pembentukan kolagen (Lim CC, 2009).

Kekurangan dari vitamin C adalah ketidak stabilannya terhadap sinar matahari, sehingga mudah teroksidasi menjadi bentuk *Dehydro Ascorbic Acid* (DHAA) yang berwarna kuning. Salah satu derivatnya yaitu *sodium ascorbyl phosphate* (SAP) merupakan bentuk paling stabil dari vitamin C. Potensinya sama seperti vitamin C dalam memicu sintesa kolagen, menghambat radikal bebas dan sebagai agen depigmentasi. SAP diserap dalam kulit dan dimetabolisme secara enzimatik menjadi asam askorbat. Pada penelitian oleh Smaoiu dan kawan kawan tentang uji stabilitas asam askorbat dan derivatnya yaitu SAP dan *Magnesium Ascorbyl Phosphate* (MAP) diperoleh bahwa SAP mempunyai bentuk paling stabil. Penelitian ini menggunakan SAP karena tidak iritatif dan lebih stabil dari vitamin C (L-ascorbic acid).

2.6 Vitamin E

Radikal bebas dan senyawa oksigen reaktif yang diproduksi dalam jumlah normal penting untuk fungsi biologis. Pada keadaan tertentu, produksi radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif dapat melebihi sistem pertahanan tubuh yang disebut sebagai stres oksidatif. Pada kondisi stres oksidatif, keseimbangan normal antara produksi radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif dengan kemampuan anti oksidan alami tubuh untuk mengeliminasi mengalami gangguan. Stres oksidatif tersebut akan menggoyahkan rantai reduksi-oksidasi normal, menyerang asam lemak tidak jenuh ganda dari membran sel, organel sel, atau DNA, sehingga dapat menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi serta kerusakan oksidatif jaringan. (Havlik RJ, 1997; Thiele J, 2007).

Vitamin E adalah vitamin larut dalam lemak yang ditemukan dalam minyak kacang, biji bunga matahari, biji-bijian, gandum dan bayam. Fungsi utama dari vitamin E adalah untuk

menjaga integritas membran intraseluler dengan melindungi stabilitas fisik dan menjaga pertahanan jaringan terhadap kerusakan yang disebabkan oleh stres oksidatif. Vitamin E diduga bekerja melalui beberapa mekanisme seperti efek antiplatelet dan sebagai immunomodulator. Vitamin E mencakup semua tokoferol dan tokotrienol dengan aktivitas biologis isomer RRR- α -tokoferol (Fiori G, 2009).

RRR- α -tokoferol dominan dalam vitamin E alami dan menentukan aktivitas biologisnya. Aktivitas vitamin E biasanya disebut D- α -tokoferil asetat. Vitamin ini diyakini sebagai antioksidan alami non-enzimatik dan larut lipid paling penting dalam jaringan manusia dan diserap oleh kulit dengan baik. Vitamin E murni topikal memiliki efek melembabkan pada kulit dan dapat mencegah proliferasi bakteri serta meningkatkan *barrier function* dari kulit (Departemen Kesehatan RI, 2004).

Beberapa aspek dari penyembuhan luka memerlukan keseimbangan antara stres oksidatif dan antioksidan. Proses fisiologi normal dari penyembuhan luka tergantung pada tingkat spesies oksigen reaktif dan stres oksidatif yang rendah. Bentuk radikal oksigen hasil dari respon terhadap kerusakan jaringan akan menghambat proses pemulihan atau perbaikan dengan menyerang DNA, membran, protein, dan lipid dari sel. Antioksidan diyakini dapat memperbaiki gangguan penyembuhan luka dengan mengontrol stres oksidatif dan mengurangi kerusakan akibat radikal bebas oksigen yang dilepaskan oleh neutrofil dalam fase inflamasi dari proses penyembuhan luka (Havlik RJ, 1997; Thiele J, 2007).

Pada akhir 1960-an, Kamimura dan kawan-kawan menyatakan bahwa vitamin E dapat menembus ke dalam dermis dan jaringan subkutan sehingga banyak ilmuwan menafsirkan bahwa pemberian topikal vitamin E dapat meningkatkan proses penyembuhan luka. Vitamin E merangsang ekspresi sitosol fosfolipase A₂, peningkatan siklooksigenase, dan pelepasan prostasiklin (diproduksi oleh siklooksigenase), yaitu vasodilator kuat yang menghambat

agregasi, adhesi serta degranulasi trombosit. Karena kemampuan sebagai antioksidan, anti agregasi, dan dapat menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah ringan, maka vitamin E diyakini dapat mengurangi kerusakan iskemik dari gangguan reperfusi, merangsang pertumbuhan dan stabilisasi jaringan granulasi, serta reepitelisasi. Vitamin E juga merangsang produksi *cyclicdenosine monofosfat* (cAMP) yang sering dikaitkan dengan efek imunomodulator dengan memodulasi respon inflamasi dari berbagai jenis sel imun termasuk makrofag.

Sebuah analisis dan evaluasi dari fungsi *α-tocopherol acetat* (α-TA) telah dilakukan untuk melihat pertumbuhan pembuluh darah kapiler baru pada luka yang sulit sembuh dengan menggunakan *videocapillaroscopy intravital* (IVCP), yaitu suatu teknik pencitraan *in vivo* yang melibatkan visualisasi langsung dari pembuluh kapiler kulit. Analisis menggunakan IVCP ini menunjukkan bahwa α-TA memacu terjadinya pembentukan awal jaringan granulasi dan resolusi cepat pembuluh kapiler baru sebelum fase reepitelisasi. Hal tersebut terjadi karena α-TA dapat merangsang ekspresi dari VEGF. α-TA terbukti dapat merangsang jaringan granulasi, merangsang angiogenesis, dan meningkatkan epitelisasi sehingga mampu meningkatkan penyembuhan luka yang sulit sembuh (Zingg JM, 2012; Lin TS, 2012; Fiori G, 2009).

2.7 Isolasi dan Kultur AMSC

Membran amnion didapat dari pasien yang menjalani persalinan seksio sesaria di gedung bedah pusat terpadu RSUD Dr. Soetomo Surabaya, melalui prosedur yang legal dan secara etik telah disetujui oleh komite etik dan penelitian RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Seleksi dilakukan pada pasien meliputi penggalian ada tidaknya riwayat keganasan pada pasien dan keluarganya, penyakit menular (HIV, hepatitis B dan C, TBC, penyakit menular seksual, malaria), dan penyakit autoimun. Pemeriksaan fisik dan pemeriksaan skrining laboratorium pada calon donor untuk mendeteksi adanya penyakit menular sesuai standar nasional (Depkes) meliputi HIV, hepatitis B, hepatitis C. Donor juga telah diskruining prenatal untuk TORCH (Toxoplasma,

Rubella, Cytomegalo Virus, Herpes Simplek). (Departemen Kesehatan RI, 2004)

Membran amnion segar segera dipisahkan dari chorion, kemudian dicuci tiga kali dengan phosphate-buffered saline (PBS) untuk menghilangkan darah yang menempel, kemudian direndam dalam larutan ringer laktat yang mengandung gentamisin dan amphotericin-B (Yulianto I, 2012; Kamadjaja DB 2014; Diaz-Prado S, 2011).

Prosedur isolasi dan kultur dilakukan di laboratorium *Stem Cell, Institute of Tropical Disease*, Universitas Airlangga, Surabaya. Sebelum dilakukan isolasi dan kultur *stem cell*, bahan membran amnion diskruining kembali sesuai standar internasional untuk mendeteksi adanya penyakit menular meliputi skrining untuk HIV, Hepatitis B, Hepatitis C, Sifilis, Toxoplasma, Rubella, Cytomegalo Virus, Herpes Simplex, PCR untuk mendeteksi p53, dan kultur ada tidaknya pertumbuhan kuman. Apabila salah satu dari skrining di atas positif, maka membran amnion dimusnahkan. Membran amnion dengan hasil skrining negatif semua yang akan diproses lebih lanjut.

Proses selanjutnya adalah isolasi sel dari membran amnion menggunakan metode modifikasi protokol Soncini. Membran amnion dicacah dengan pisau menjadi potongan halus (20 mm^3), kemudian ditambahkan enzim tripsin 0,25% dari kedelai untuk mencerna sel-sel epitel, dan di sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit pada temperatur 40°C . Setelah setrifugasi selesai, supernatan dibuang. Proses ini dilakukan sebanyak 2 kali. Suspensi sel kemudian ditambah PBS yang mengandung collagenase IV 0,75 mg/ml dari sapi (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) dan Dnase 0,075 mg/ml dari pankreas sapi (Takara Bio, Shiga, Japan), dan diinkubasi pada temperatur 37°C selama 60 menit. Setelah 60 menit, suspensi sel disentrifugasi kembali selama 5 menit, kemudian dilakukan penyaringan dengan saringan sel untuk mendapatkan sel-sel yang diperlukan untuk kultur (Yulianto I, 2012; Kamadjaja DB, 2014; Diaz-Prado S, 2011).

Sel-sel kemudian dikultur pada *plate/dish* berukuran 25 cm² (dengan kepadatan sel 1x10⁶ sel/cm²) berlapis kolagen menggunakan medium Dulbecco (DMEM)/F12(1:1) (Gibco BRL, Gaithersburg, MD, USA), dan ditambah human leukemia inhibitory factor (10 ng/mL) dan fetal bovine serum (Gibco BRL). *Plate/disk* yang berisi sel diinkubasi pada 37°C dan dikondisikan hipoksia dengan kadar CO₂ 5%. Medium kultur diganti tiap 3 hari, sampai diperoleh proporsi kepadatan kultur sel 90% dibandingkan medium kulturnya, baru kemudian stem cell dapat dituai atau dipisahkan dari medium kulturnya. Pemisahan *stem cell* dari medium kulturnya dilakukan secara enzimatis menggunakan enzim tripsin dari kedelai. Sel-sel dapat ditanam kembali pada medium kultur yang baru. Medium kultur yang berisi produk metabolit AMSC kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1.000 rpm selama 10 menit, kemudian dicuci dengan PBS dan didiamkan 24 jam. Medium kultur yang berisi produk metabolit AMSC siap dipakai (Yulianto I, 2012; Kamadjaja DB, 2014; Diaz-Prado S, 2011).

2.8 Cara Pembuatan Gel Produk Metabolit AMSC

Pada studi ini produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E akan diaplikasikan pada luka, sehingga harus dibuat dalam bentuk *gel* agar dapat melekat pada luka. Kebutuhan produk metabolit AMSC adalah 0,2 mL/cm² luas luka. Pada studi ini luas luka maksimal yang diikutsertakan adalah 9 cm², sehingga kebutuhan maksimal produk metabolit AMSC adalah 2 mL setiap kali aplikasi, dan akan diaplikasikan tiap 3-4 hari sekali selama 2 bulan atau maksimal 14 kali aplikasi.

Produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E dibuat dalam bentuk *gel* supaya dapat melekat pada luka, yaitu dengan menambahkan *alginate acid sodium (Phaeophyceae)* dari alga coklat. Alginate dipakai dalam aplikasi bioteknologi (*stem cell*, produk metabolit *stem cell*) untuk membuat gel

karena mempunyai sifat mengentalkan cairan, menstabilkan *gel*, dan hipoalergenik. Dosis *alginate acid sodium* yang diperlukan per-1mL produk metabolit AMSC dari literatur adalah sebanyak 0,02 gram/mL (Ji JA, 2009; Draget KI, 2005). Proses pencampuran supaya didapat *gel* yang homogen menggunakan alat *magneticstir*.

2.1 Framycetin Gauze Dressing (FGD) / Framycetin Tulle Dressing

FGD merupakan produk perawatan luka steril, berbentuk anyaman yang mengandung antibiotik spektrum luas *framycetin sulfat* B.P 1% dari golongan aminoglikosida, dan lanolin anhidrat. FGD digunakan sebagai dressing primer yang berkontak langsung dengan luka, kemudian ditutup dengan dressing sekunder kasa steril dan dressing film transparan. FGD tepat diaplikasikan pada fase inflamasi penyembuhan luka untuk mencegah atau mengatasi infeksi karena mengandung antibiotik, namun tidak bermanfaat diaplikasikan pada fase proliferasi penyembuhan luka karena FGD tidak mengandung *growth factor* dan sitokin. FGD banyak dipergunakan dalam manajemen perawatan luka / ulkus / luka bakar, sehingga dalam studi ini FGD dipilih untuk manajemen terapi pada kelompok kontrol. Sampai saat ini belum ada studi yang membandingkan efikasi FGD dengan produk metabolit AMSC dalam hal kecepatan penyembuhan luka.

2.2 Perawatan Ulkus, Evaluasi Ulkus, dan Teknis Aplikasi Produk Metabolit AMSC

Tujuan penelitian ini hendak mengevaluasi pengaruh pemberian produk metabolit AMSC terhadap penyembuhan ulkus plantar kronis MH, dibandingkan dengan perawatan standar menggunakan FGD. Sebelum produk metabolit AMSC atau diaplikasikan pada ulkus, maka ulkus terlebih dahulu dilakukan perawatan luka yaitu dengan menghilangkan debris, jaringan nekrotik, dan kalus. Apabila ulkus mengeluarkan cairan eksudat banyak, dilakukan rawat luka dengan menggunakan *foam dressing*. Perawatan luka persiapan dilakukan sampai didapatkan

ulkus dengan dasar dan tepinya berwarna merah, dan tidak mengeluarkan cairan eksudasi. Setelah itu ulkus diukur luasnya dalam satuan centimeter (cm^2) dengan *opsite flexigrid*, dan diukur kedalaman lukanya dengan lidi kapas steril, sehingga didapatkan data awal luas dan dalam ulkus sebelum dilakukan terapi.

Pada kelompok perlakuan, diaplikasikan gel produk metabolit AMSC dengan dosis 0,2 mL/ cm^2 , kemudian ditutup dengan dressing film transparan, dan baru dibuka 3 hari kemudian untuk dilakukan rawat luka dan aplikasi gel produk metabolit AMSC oleh peneliti (*home visit*). Pasien kontrol tiap 1 minggu ke URJ Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya untuk dievaluasi luas dan dalam ulkus, efek samping dan komplikasi akibat pemberian gel produk metabolit AMSC, serta aplikasi gel metabolit AMSC oleh peneliti. Prosedur aplikasi gel metabolit AMSC dilakukan maksimal 2 bulan atau 14 kali aplikasi. Evaluasi dan aplikasi produk AMSC dihentikan jika ulkus telah sembuh sebelum 2 bulan.

Pada kelompok kontrol, setelah ulkus bersih dan tidak eksudatif lagi, diaplikasikan FGD, kemudian ditutup dengan kasa steril dan *dressing film* transparan, dan baru dibuka 3 hari kemudian untuk dilakukan rawat luka dan aplikasi FGD kembali oleh peneliti (*home visit*). Pasien kontrol tiap 1 minggu ke URJ Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya untuk dievaluasi luas dan dalam ulkus, efek samping dan komplikasi akibat pemberian FGD, dan aplikasi FGD oleh peneliti. Prosedur aplikasi FGD ini dilakukan sampai maksimal 2 bulan atau 14 kali aplikasi. Evaluasi dan aplikasi FGD dihentikan jika ulkus telah sembuh sebelum 2 bulan.

2.3 Dressing Film Transparan

Dressing film transparan merupakan *dressing* luka yang berwarna bening, bersifat kedap air, dan digunakan untuk menutup luka, baik sebagai *dressing* primer (melekat pada luka), maupun sebagai *dressing* sekunder (tidak melekat pada luka). Pada studi ini, *dressing film*

transparan diaplikasikan pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Keuntungan *drressing film* transparan adalah kedap air dan tidak menyerap *gel* topikal yang diaplikasikan pada ulkus. Tiap 3 hari, *drressing film* transparan dilepas, dilakukan rawat luka dan aplikasi produk metabolit AMSC atau FGD, kemudian ditutup kembali dengan *drressing film* transparan baru.



BAB 3

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

3.1.1 Tujuan Umum

Menjelaskan mekanisme percepatan penyembuhan terhadap pemberian topikal produk metabolit AMSC, campuran topikal produk metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran topikal produk metabolit AMSC dan vitamin E, pada ulkus plantar kronis Morbus Hansen berdasarkan perawatan luka standar dengan FGD.

3.1.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan tingkat prosentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH setiap minggu pada kelompok perlakuan yang mendapat terapi topikal dengan produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E.
2. Membuktikan tingkat prosentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH setiap minggu pada kelompok kontrol yang mendapat terapi dengan FGD.
3. Membandingkan prosentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH setiap minggu dan di akhir studi, antara kelompok yang mendapat produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E dengan kelompok yang mendapat FGD .

4. Mengevaluasi efek samping yang mungkin terjadi akibat pemberian topikal produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E, serta FGD.
5. Mengevaluasi komplikasi yang mungkin terjadi akibat pemberian topikal produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E, serta FGD.

3.2 Manfaat Penelitian

3.2.1 Manfaat Bagi Pengembangan Ilmu Pengetahuan

1. Memperoleh bukti pengaruh pemberian topikal produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E, lebih baik dibandingkan perawatan standar dengan FGD pada penyembuhan ulkus plantar kronis MH.
2. Memberi dasar teori lebih lanjut untuk pengembangan penelitian pengaruh pemberian topikal produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E, yang berkaitan dengan penyembuhan ulkus kronis pada kulit manusia.

3.2.2 Manfaat Bagi Pelayanan Kesehatan

Diharapkan kedepannya didapatkan formulasi produk metabolit AMSC, campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C, serta campuran produk metabolit AMSC dan vitamin E, dengan harga lebih murah sehingga terjangkau oleh masyarakat yang dapat digunakan sebagai terapi topikal ulkus plantar kronis MH.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Populasi, Sampel dan Besar Sampel Penelitian

4.1.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah semua pasien MH dengan ulkus plantar kronis (baik ulkus tunggal maupun ulkus multipel), yang datang berobat di URJ Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Divisi MH RSUD. Dr. Soetomo Surabaya.

4.1.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah semua ulkus plantar pedis (baik ulkus tunggal maupun multipel) pada pasien MH yang memenuhi kriteria penerimaan sampel, yang datang berobat di URJ Kulit dan Kelamin Divisi MH RSUD. Dr. Soetomo Surabaya.

4.1.3 Besar Sampel Penelitian

Besar sampel ulkus dihitung berdasarkan rumus :

$$n1 = n2 = n3 = n \text{ kontrol} = 2 \left(\frac{(1''1''1''1'')}{(1''1''1''1'')} \right)^{\frac{1}{2}} = 22$$

n1 = besar sampel pada kelompok perlakuan (produk metabolit AMSC)

n2 = besar sampel pada kelompok perlakuan (campuran produk metabolit AMSC dan vitamin C)

n3 = besar sampel pada kelompok perlakuan (campuran produk metabolit

AMSC dan vitamin E)

n kontrol= besar sampel pada kelompok kontrol (*framycetin gauze dressing*)

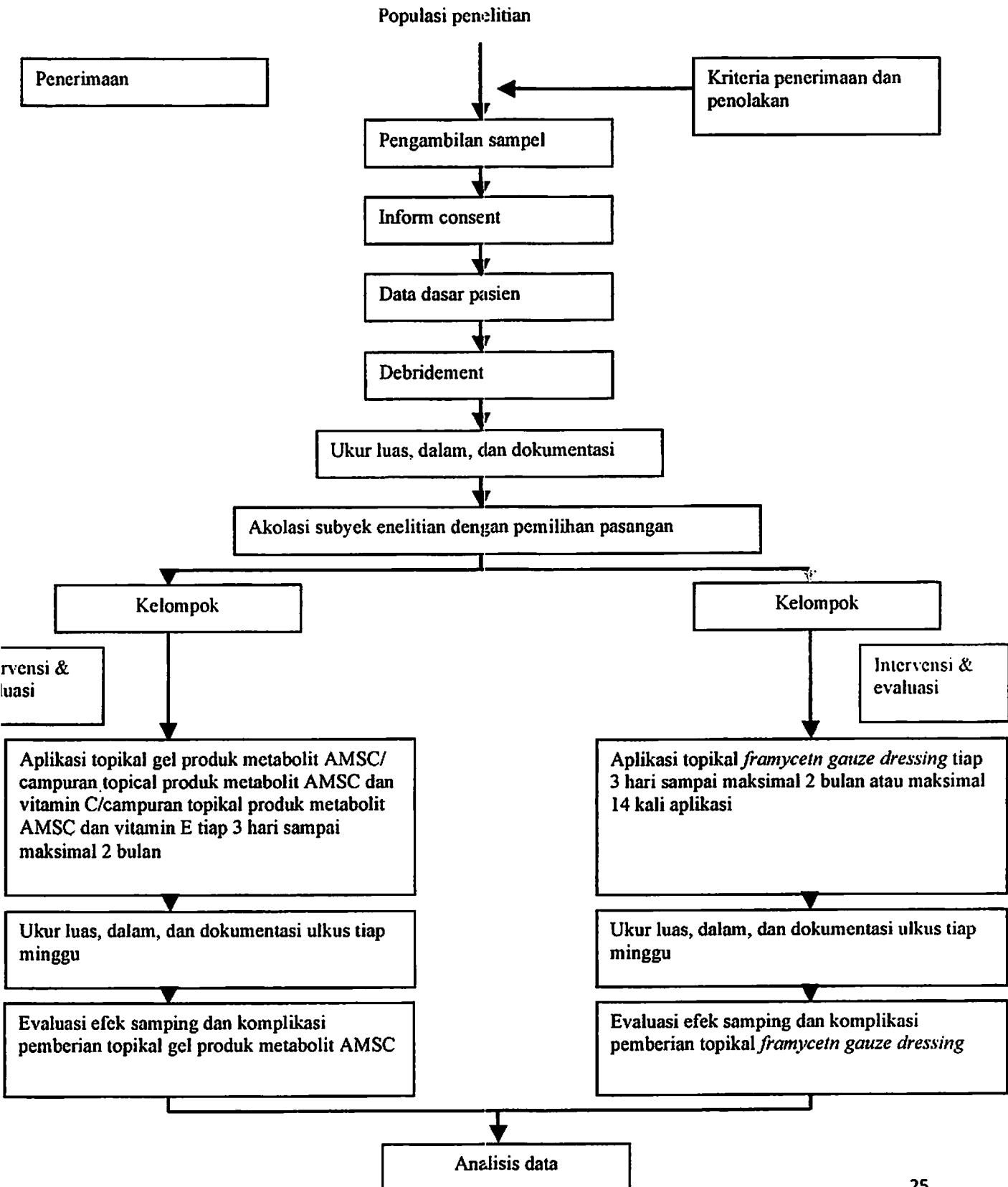
$z\alpha$ = besarnya 1,96 pada tingkat kemaknaan $\alpha = 0,05$

$z\beta$ = besarnya 0,842

s = simpang baku kedua kelompok, besarnya = 3,23

x_1-x_2 = selisih minimal rerata yang dianggap bermakna, besarnya 2

4.2 Tahapan / Alur Penelitian



4.3 Tempat Penelitian

- 4.3.1 Pengambilan sampel penelitian dilakukan di URJ Kesehatan Kulit dan Kelamin Divisi Morbus Hansen RSUD Dr. Soetomo Surabaya
- 4.3.2 Pembuatan gel produk metabolit AMSC dilakukan di Laboratorium Stem Cell Institute of Tropical Disease Universitas Airlangga Surabaya.

4.4 Peubah yang Diamati / Diukur

- 4.4.1 Prosentase penyembuhan ulkus setiap minggu dan di akhir studi
- 4.4.2 Efek samping dan komplikasi selama pemberian gel produk metabolit AMSC dan *framycetin gauze dressing*

4.5 Subyek Penelitian

Semua ulkus plantar pedis (baik ulkus tunggal maupun multipel) pada pasien MH yang memenuhi kriteria penerimaan sampel, yang datang berobat di URJ Kulit dan Kelamin Divisi MH RSUD. Dr. Soetomo Surabaya.

Kriteria Penerimaan Sampel :

1. Pasien MH berusia ≥ 21 tahun atau sudah menikah, dengan ulkus plantar kronis >6 minggu, baik ulkus tunggal maupun multipel.
2. Luas ulkus maksimal 9 cm^2 .
3. Kedalaman ulkus $\leq 0,5 \text{ cm}$
4. Ulkus plantar kronis sederhana
5. Keadaan umum penderita baik.
6. Bersedia untuk mengikuti penelitian dan menandatangani informed consent.

Kriteria Penolakan Sampel :

1. Penggunaan kortikosteroid sistemik dalam 2 minggu terakhir.
2. Pasien dengan riwayat hemofili / gangguan faal pembekuan darah / penggunaan anti platelet.
3. Riwayat hipersensitifitas terhadap framycetin sulfat, antibiotik golongan aminoglikosida, dan terhadap sulfat
4. Riwayat hipersensitifitas terhadap *adhesive plester*

4.6 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental analitik dengan menggunakan metode uji klinis terkontrol, pemilihan pasangan serasi, dan desain paralel yang membandingkan terapi topikal *gel* produk metabolit AMSC (perlakuan) dan *framycetin gauze dressing* (kontrol) pada pasien ulkus plantar kronis MH.

4.7 Prosedur Penelitian

- 4.7.1 Kultur AMSC
- 4.7.2 Pemanenan AMSC
- 4.7.3 Purifikasi produk metabolit dari *stem cell*
- 4.7.4 Membuat formulasi *gel* produk metabolit AMSC
- 4.7.5 Aplikasi formulasi *gel* produk metabolit AMSC pada pasien

4.8 Teknik Pengumpulan dan Analisa Data

4.8.1 Teknik Pengumpulan Data

Dilakukan dengan mengisi lembar pengumpul data

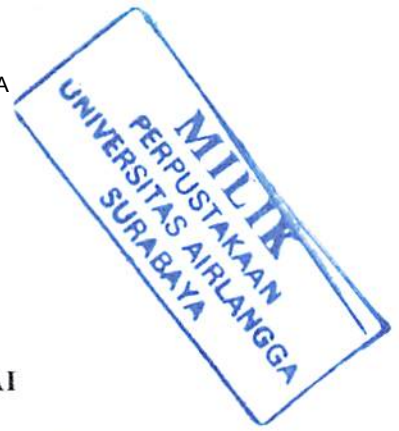
4.8.2 Pengolahan Data

4.8.2.1 Mengisi data pada lembar pengumpul data

4.8.2.2 Data ukuran ulkus awal (luas dan dalam ulkus) sebelum dilakukan intervensi disusun dalam bentuk tabel pada masing-masing kelompok *gel* produk metabolit AMSC dan FGD

4.8.2.3 Selama intervensi, dilakukan pengumpulan data ukuran ulkus (luas dan dalam ulkus) tiap minggu dan disusun dalam bentuk tabel pada masing-masing kelompok *gel* produk AMSC dan FGD

4.8.2.4 Data dianalisis dengan menggunakan uji statistik paired t-test (uji t berpasangan) karena kelompok perlakuan dan kontrol dilakukan pemilihan pasangan serasi (*matchi*)



BAB 5

HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

5.1 Perlakuan dengan Pemberian Gel Produk Metabolit AMSC (gel PM-AMSC)

Penelitian ini melibatkan 44 ulkus plantar kronis dari pasien MH, yang diperoleh dari 44 subjek penelitian yang memenuhi kriteria penerimaan dan penolakan sampel, dimana 22 ulkus berada dalam kelompok kontrol FGD dan 22 ulkus berada dalam kelompok perlakuan gel produk metabolit AMSC (gel PM-AMSC). Alokasi subjek penelitian ke dalam kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dilakukan dengan pemilihan pasangan serasi (*matching*) berdasarkan pekerjaan (membutuhkan berdiri / berjalan lama, tidak membutuhkan berdiri / berjalan lama) dan luas luka ($< 1 \text{ cm}^2$, $1 - 4 \text{ cm}^2$, $> 4 \text{ cm}^2$) Masing-masing kelompok penelitian dilakukan *debridement* secara pembedahan untuk membuang kalus dan jaringan nekrotik pada ulkus, kemudian subjek penelitian mendapat pengobatan FGD atau gel PM-AMSC untuk ulkus plantarnya setiap 3 hari selama maksimal 8 minggu (maksimal 14 kali aplikasi obat). Seluruh subjek penelitian dapat menyelesaikan studi tanpa didapatkan kasus *drop out*. Efek samping akibat pengobatan yang diberikan berupa dermatitis kontak alergi tidak ditemukan pada kedua kelompok penelitian. Komplikasi berupa perburukan kondisi ulkus didapatkan pada 1 subjek penelitian pada kelompok kontrol yaitu berupa penambahan luas ulkus.

Karakteristik dasar subjek penelitian dari masing-masing kelompok kontrol dan perlakuan ditampilkan pada Tabel 5.1

Tabel 5.1. Karakteristik dasar subjek penelitian pasien ulkus plantar kronis MH

Variabel	Jumlah		Jumlah (n=44)
	FGD (n=22)	PM-AMSC (n=22)	
Jenis Kelamin			
▪ Laki-laki, n (%)	14 (63.6)	13 (59.1)	27 (61.4)

▪ Perempuan, n (%)	8 (36.4)	9 (40.9)	17 (38.6)
Usia (tahun)			
▪ 21 – 50 tahun, n (%)	7 (31.8)	12 (54.5)	19 (43.2)
▪ > 50 tahun, n (%)	15 (68.2)	10 (45.5)	25 (56.8)
Pekerjaan			
▪ Banyak berdiri/berjalan lama, n (%)	11 (50.0)	11 (50.0)	22 (50.0)
▪ Tidak banyak berdiri/berjalan lama, n (%)	11 (50.0)	11 (50.0)	22 (50.0)
Lama ulkus (tahun)			
▪ < 1 tahun, n (%)	5 (22.7)	6 (27.3)	11 (25.0)
▪ 1 – 5 tahun, n (%)	17 (77.3)	15 (63.6)	32 (72.7)
▪ > 5 tahun, n (%)	0 (0)	1 (9.1)	1 (2.3)
Luas ulkus awal (cm²)			
▪ < 1 cm ²	3 (13.6)	3 (13.6)	6 (13.6)
▪ 1 – 4 cm ²	19 (86.4)	19 (86.4)	38 (86.4)

Tabel 5.1 menunjukkan terdapat distribusi yang tidak merata antara subjek laki-laki (61,4%) dan perempuan (38,6%). Seluruh subjek pada penelitian ini berusia 21 tahun ke atas, dimana usia terbanyak lebih dari 50 tahun sebanyak 56,8%, diikuti usia 21-50 tahun sebanyak 43,2%. Pekerjaan subjek penelitian sebagian besar membutuhkan banyak berdiri / berjalan lama (50%) antara lain bekerja sebagai petani, mencari rumput, penarik becak, pemulung, pekerja bangunan, pekerja pabrik. Sebagian kecil subjek penelitian (50%) memiliki pekerjaan yang tidak membutuhkan banyak berdiri / berjalan lama seperti ibu rumah tangga, memelihara ayam, membawa becak motor. Ulkus plantar pada subjek penelitian sebagian besar sudah berlangsung lama yaitu 1-5 tahun pada 32 orang (72,7%), < 1 tahun pada 11 orang (25,0 %), dan > 5 tahun pada 1 orang (2,3%), dengan rerata lama ulkus pada kedua kelompok penelitian ini adalah $1,25 \pm 0,67$ tahun. Ukuran luas ulkus awal pada subjek penelitian didapatkan sebagian besar berukuran luas 1-4 cm² pada 38 orang (86,4%), dan 6 orang (13,6%) dengan luas awal ulkus < 1 cm², dengan rerata ukuran luas ulkus awal pada kedua kelompok penelitian ini adalah sebesar $1,98 \pm 1,19$ cm².

Tabel 5.2. Lokasi ulkus kronis MH pada plantar pedis subjek penelitian

Distribusi ulkus kronis pada plantar pedis	FGD (n = 22)	PM-AMSC (n = 22)	Jumlah (n=44)
Telapak kaki depan, n (%)	20 (90,9)	21 (95,5)	41 (93,2)
▪ Ujung jari kaki, n (%)	0 (0)	1 (4,5)	1 (2,3)
▪ Caput metatarsal I, n (%)	10 (45,5)	12 (45,5)	22 (50,0)
▪ Caput metatarsal II-IV, n (%)	6 (27,3)	7 (31,8)	13 (29,5)
▪ Caput metatarsal V, n (%)	4 (18,2)	0 (0)	4 (9,1)
▪ Basis metatarsal II-III, n (%)	0 (0)	1 (4,5)	1 (2,3)
Telapak kaki tengah	2 (9,1)	1 (4,5)	3 (6,8)
▪ Sisi lateral plantar pedis, n (%)	2 (9,1)	0 (0)	2 (4,5)
▪ Sisi medial plantar pedis, n (%)	0 (0)	1 (4,5)	1 (2,3)

Distribusi ulkus plantar pedis pada kedua kelompok penelitian terbanyak pada telapak kaki bagian depan yaitu pada 41 orang (93,2%), diikuti pada telapak kaki tengah pada 3 orang (6,8%), dan tidak ada subjek penelitian yang mempunyai ulkus pada telapak kaki belakang (Tabel 5.2). Distribusi ulkus pada telapak kaki bagian depan terbanyak pada area caput metatarsal I pada 22 orang (50,0%), diikuti pada area caput metatarsal II-IV pada 13 orang (29,5%), 4 ulkus (9,1%) pada caput metatarsal V, pada area ujung jari kaki dan basis metatarsal II – III masing-masing 1 orang (2,3%).

Tabel 5.3. Prosentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH pada subjek penelitian

Prosentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH	FGD (n = 22)	PM-AMSC (n =22)
--	-----------------	--------------------

Rerata prosentase berkurangnya luas ulkus (%)		
- minggu I ± SD	17,23 ± 21,62	43,00 ± 30,90
- Minggu II ± SD	30,30 ± 30,62	64,07 ± 30,26
- Minggu III ± SD	33,90 ± 35,85	75,75 ± 28,05
- Minggu IV ± SD	44,51 ± 38,59	82,26 ± 25,75
- Minggu V ± SD	47,54 ± 40,10	86,30 ± 23,33
- Minggu VI ± SD	48,67 ± 43,14	88,74 ± 22,62
- Minggu VII ± SD	51,89 ± 46,73	89,73 ± 22,59
- Minggu VIII ± SD	52,65 ± 51,94	90,37 ± 22,81

Rerata prosentase berkurangnya dalam ulkus (%)		
- Minggu I ± SD	9,62 ± 14,37	38,03 ± 33,12
- Minggu II ± SD	18,56 ± 22,73	54,32 ± 37,93
- Minggu III ± SD	25,68 ± 33,05	64,47 ± 36,97
- Minggu IV ± SD	32,95 ± 40,39	71,97 ± 36,81
- Minggu V ± SD	37,12 ± 41,12	78,03 ± 31,14
- Minggu VI ± SD	41,06 ± 40,94	78,94 ± 31,50
- Minggu VII ± SD	47,58 ± 40,35	82,27 ± 29,23
- Minggu VIII ± SD	50,91 ± 41,74	84,92 ± 28,34

Tabel 5.3 menunjukkan rerata prosentase penyembuhan ulkus tiap minggu pada kedua kelompok penelitian. Rerata prosentase penyembuhan ulkus mengalami peningkatan setiap minggu pada kedua kelompok. Pada akhir penelitian (minggu 8) kelompok FGD didapatkan rerata prosentase berkurangnya luas ulkus sebesar $52,65\% \pm 53,17\%$, dan rerata prosentase berkurangnya dalam ulkus sebesar $50,91\% \pm 42,72\%$. Pada akhir penelitian kelompok PM-AMSC didapatkan rerata prosentase berkurangnya luas ulkus sebesar $90,37\% \pm 22,80\%$, dan rerata prosentase berkurangnya dalam ulkus sebesar $84,92\% \pm 28,34\%$. Perhitungan rerata prosentase luas dan dalam ulkus tiap minggu ini diperoleh dari rerata luas dan dalam ulkus awal dikurangi rerata luas dan dalam ulkus minggu ke-n, dibagi rerata luas dan dalam ulkus awal, kemudian dikalikan 100%. Data di atas menunjukkan rerata prosentase penyembuhan ulkus setiap minggu dan di akhir pengobatan, baik untuk luas maupun dalam ulkus, lebih besar pada kelompok PM-AMSC dibandingkan kelompok FGD.

Tabel 5.4. Kemajuan ulkus secara klinis pada akhir penelitian

Kemajuan ulkus pada akhir penelitian	FGD (n=22)	PM-AMSC (n=22)
Sembuh, n (%)	8 (36.4)	16 (72.7)
Membaik, n (%)	8 (36.4)	5 (18.2)
Tetap, n (%)	5 (22.7)	1 (9.1)
Memburuk, n (%)	1 (4.5)	0 (0)

Tabel 5.4. menyajikan kemajuan ulkus secara klinis pada kedua kelompok penelitian di akhir pengobatan, dimana diklasifikasikan menjadi sembuh, membaik, tetap, atau memburuk. “Sembuh” apabila ulkus menutup, “membaik” apabila ukuran luas dan dalam ulkus berkurang pada akhir pengobatan dibandingkan awal pengobatan, “tetap” apabila ukuran luas dan dalam ulkus pada akhir pengobatan sama dengan awal pengobatan, dan “memburuk” apabila ukuran luas atau dalam ulkus bertambah pada akhir pengobatan dibandingkan awal pengobatan.

Pada kelompok FGD didapatkan ulkus yang sembuh pada 8 orang (36,4%), ulkus yang membaik pada 8 orang (36,4%), ulkus yang tetap pada 5 orang (22,7%), dan ulkus yang memburuk pada 1 orang (4,5%). Pada kelompok PM-AMSC didapatkan ulkus yang sembuh pada 16 orang (72,7%), ulkus yang membaik pada 5 orang (18,2%), ulkus yang tetap pada 1 orang (9,1%), dan tidak ada ulkus yang memburuk. Secara klinis kemajuan ulkus pada akhir pengobatan lebih baik pada kelompok PM-AMSC dibandingkan kelompok FGD.

Tabel 5.5. Karakteristik subjek penelitian yang ulkusnya sembuh

Variabel	FGD (n = 8)	PM-AMSC (n = 16)
Ulkus sembuh pada :		
▪ Minggu I, n (%)	0 (0)	3 (18,75)
▪ Minggu II, n (%)	0 (0)	4 (25,0)

▪ Minggu III, n (%)	2 (25,0)	3 (18,75)
▪ Minggu IV, n (%)	3 (37,5)	2 (12,5)
▪ Minggu V, n(%)	1(12,5)	1 (6,25)
▪ Minggu VI, n(%)	1(12,5)	1 (6,25)
▪ Minggu VII,n(%)	0	1(6,25)
▪ Minggu VIII, n(%)	1(12,5)	1(6,25)
Pekerjaan :		
▪ Berdiri / berjalan lama, n (%)	3 (37,5)	6 (37,5)
▪ Tidak berdiri / berjalan lama, n (%)	5 (62,5)	10 (62,5)
Ukuran ulkus awal		
▪ Luas ulkus, n (%)		
- < 1 cm ²	3 (37,5)	3 (18,75)
- 1 – 4 cm ²	5 (62,5)	13 (81,2)
▪ Dalam ulkus, n (%)		
- 0,3 cm	5 (62,5)	7 (43,7)
- 0,4 cm	1 (12,5)	6 (37,5)
- 0,5 cm	2 (25,0)	3 (18,7)

Pada kelompok FGD terdapat 8 ulkus yang sembuh, ulkus tersebut mempunyai luas masing-masing < 1 cm² dan 1-4 cm², sedangkan dalam ulkus masing-masing 0,3 cm, 0,4 cm, 0.5 cm. Pekerjaan pada kedua subjek penelitian 62,55 tidak membutuhkan berdiri / berjalan lama.

Pada kelompok PM-AMSC terdapat 16 subjek penelitian yang ulkunya sembuh. Pekerjaan ke16 subjek penelitian tersebut, terdapat 6 orang (37,5%) yang pekerjaannya membutuhkan berdiri / berjalan lama, dan 10 orang (62,5%) dengan pekerjaan yang tidak membutuhkan berdiri / berjalan lama. Ukuran ulkus di awal studi pada kel16 subjek penelitian tersebut, didapatkan 13 subjek (81,2%) dengan luas ulkus 1-4 cm², dan 3 subjek (18,75%) dengan luas ulkus <1 cm². Dalamnya ulkus pada awal studi didapatkan 7 subjek (43,7%) dengan dalam ulkus 0,3 mm dan 6 subjek (37,5%) dengan dalam ulkus 0,4 cm dan 3 subjek (18,7%) dengan

dalam 0,5 cm.

5.2 Perlakuan dengan Pemberian Gel Produk Metabolit AMSC + vitamin E

Penelitian terhadap 44 sampel yang terdiri dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol terdiri dari 22 ulkus yang mendapat pengobatan PM-AMSC, sedangkan kelompok perlakuan terdiri dari 22 ulkus yang mendapat pengobatan gel campuran produk metabolit AMSC (PM-AMSC) + vitamin E. Subjek penelitian merupakan pasien MH dengan ulkus plantar kronis ≥ 3 minggu dengan kedalaman ulkus $\leq 0,5$ cm dan luas luka maksimal 9 cm^2 , tidak mengkonsumsi kortikosteroid sistemik dalam 2 minggu terakhir, tidak memiliki riwayat Diabetes Melitus, hemofili atau gangguan faal pembekuan darah maupun penggunaan antiplatelet, tidak memiliki riwayat hipersensitivitas terhadap *dressing* film transparan, *adhesive plester*, *framycetine sulfate*, antibiotik golongan aminoglikosida dan sulfat, memiliki keadaan umum baik, serta bersedia untuk mengikuti penelitian. Pembagian subjek penelitian ke dalam kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dilakukan dengan menggunakan teknik pemilihan pasangan serasi antara kelompok (*matching*) berdasarkan pekerjaan, yang terdiri dari tidak ada risiko (berdiri secara terus menerus selama ≤ 1 jam dan berdiri selama ≤ 4 jam/hari), risiko rendah (berdiri secara terus menerus selama > 1 jam atau berdiri selama > 4 jam/hari), dan risiko tinggi berdiri secara terus menerus selama > 1 jam dan berdiri selama > 4 jam/hari); dan luas luka ($< 1 \text{ cm}^2$, $1-4 \text{ cm}^2$, $> 4-9 \text{ cm}^2$). Dilakukan tindakan *surgical debridement* kepada kedua kelompok penelitian sebelum diberikan pengobatan. *Surgical debridement* ini bertujuan untuk membuang kalus dan jaringan nekrotik serta membuat semua ulkus kembali pada fase penyembuhan yang sama, yaitu fase koagulasi dan inflamasi. Semua subjek pada penelitian ini telah memenuhi kriteria penerimaan serta penolakan sampel, dan bersedia ikut serta dalam penelitian dengan menandatangani *information for consent* dan lembar persetujuan tindakan medis. Dari hasil pengumpulan data, diperoleh karakteristik dasar subjek penelitian yang dipaparkan pada Tabel

5.6.

Subjek penelitian ini terdiri dari 23 perempuan (52,3%) dan 21 laki-laki (47,7%). Kelompok PM-AMSC terdiri dari 13 laki-laki (59,1%) dan 9 perempuan (40,9%), sedangkan pada kelompok gel PM-AMSC + vitamin E terdiri dari 8 laki-laki (36,4%) dan 14 perempuan (63,6%).

Kelompok usia terbanyak yang menderita ulkus kronis MH pada penelitian ini adalah kelompok usia 55-64 tahun sebanyak 18 subjek (40,9%) dan paling sedikit kelompok usia 65-74 (9,0%) sebanyak 4 subjek.

Tabel 5.6 Karakteristik dasar subjek penelitian pasien ulkus plantar kronis MH di Divisi Morbus Hansen URJ Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya

Variabel	Jumlah		
	PM-AMSC (n = 22)	PM-AMSC + Vit E (n = 22)	(n = 44)
Jenis Kelamin			
Laki-laki, n (%)	13 (59,1)	8(36,4)	21(47,7)
Perempuan, n (%)	9 (40,9)	14(63,4)	23(52,3)
Usia (tahun)			
15-24 tahun, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
25-34 tahun, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
35-44 tahun, n (%)	5 (22.7)	2(9.09)	7(15.9)
45-54 tahun, n (%)	7 (31.8)	8(36,3)	15(34.1)
55-64 tahun, n (%)	9 (40.9)	9(40.9)	18(40.9)
65-74 tahun, n (%)	1(4.6)	3 (13.6)	4(9.0)
Pekerjaan			
Tidak ada risiko, n (%)	(0)	(0)	(0)
Risiko rendah, n (%)	10 (54.5)	12 (54,5)	22 (50,0)
Risiko tinggi, n (%)	12 (45.5)	10 (45.5)	22 (50,0)
Lama ulkus (tahun)			
<1 tahun, n (%)	6 (27.3)	9 (40.9)	15 (34.1)

1-5 tahun, n (%)	15 (68.1)	13 (59.1)	28 (63,6)
> 5 tahun, n (%)	1 (4.6)	0 (0)	1 (2.3)

FGD: *framycetin gauze dressin*; PM-AMSC: produk metabolit-*amniotic membrane stem cell*; Vit E: vitamin E; SD: standar deviasi

Didapatkan 22 subjek penelitian (50,0%) memiliki pekerjaan dengan risiko tinggi, antara lain petani, pedagang keliling, peternak, dan penarik becak. Sebanyak 22 subjek (50,0%) merupakan ibu rumah tangga dengan pekerjaan risiko rendah sehari-harinya.

Ulkus plantar pada penelitian ini sebagian besar sudah berlangsung selama 1-5 tahun yang terjadi pada 28 subjek (63,6 %), diikuti <1 tahun pada 15 subjek (34,1%). Distribusi lama ulkus pada kelompok kontrol didapatkan frekuensi terbanyak pada kelompok 1-5 tahun, yaitu 15 subjek (68,1%), diikuti kelompok <1 tahun sebanyak 6 subjek (27,3%) dan >5 tahun sebanyak 1 subjek (4,6%). Distribusi lama ulkus pada kelompok perlakuan didapatkan frekuensi terbanyak adalah 1-5 tahun yaitu 13 subjek (59,1%), diikuti kelompok <1 tahun sebanyak 9 subjek (40,9%).

Tabel 5.7. Lokasi ulkus plantar kronis MH pada subjek penelitian di Divisi Morbus Hansen URJ Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya

Distribusi ulkus kronis pada plantar pedis	PM-AMSC (n = 22)	PM-AMSC + Vit E (n = 22)	Jumlah (n = 44)
Telapak kaki depan, n (%)	21 (95,5)	18 (81,8)	39 (88,6)
Digit I, n (%)	1 (4,5)	6 (27,3)	7 (15,9)
Caput metatarsal I, n (%)	12 (45,5)	6 (27,3)	18 (40,9)
Caput metatarsal II-IV, n (%)	7 (31,8)	3 (13,6)	10 (22,7)
Caput metatarsal V, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Basis metatarsal II-III, n (%)	1 (4,5)	3 (13,6)	4 (9,1)
Telapak kaki tengah	1 (4,5)	4 (18,2)	5 (11,4)
Sisi lateral plantar pedis, n (%)	0 (0)	2 (9,1)	2 (4,5)
Sisi medial plantar pedis, n (%)	1 (4,5)	2 (9,1)	3 (6,8)

FGD: *framycetin gauze dressin*; PM-AMSC: produk metabolit-*amniotic membrane stem cell*; Vit

E: vitamin E

Distribusi ulkus plantar pedis pada kedua kelompok penelitian didapatkan terbanyak di telapak kaki depan pada 39 orang (88,6%), diikuti telapak kaki tengah pada 5 orang (11,4%), seperti yang terlihat pada Tabel 5.7. Tidak didapatkan ulkus di telapak kaki belakang. Distribusi ulkus pada telapak kaki bagian depan terbanyak pada area caput metatarsal I sebanyak 18 ulkus (40,9%), diikuti oleh caput metatarsal II-IV sebanyak 10 ulkus (22,7%), digit I sebanyak 7 orang (15,9%) dan basis metatarsal II-III masing-masing 4 orang (9,1%). Didapatkan distribusi ulkus di telapak kaki tengah sebanyak 2 ulkus (4,5%) pada sisi lateral plantar pedis dan sisi medial plantar pedis sebanyak 3 (6,8%).

Tabel 5.8 Prosentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH pada subjek penelitian

Prosentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH	PM-AMSC (n = 22)	PM-AMSC + Vit E (n = 22)
Rerata prosentase berkurangnya luas ulkus (%)		
- Minggu 1 ± SD	43.00±30.90	17.08 ± 25.25
- Minggu 2 ± SD	64.07±30.26	33.25 ± 23.99
- Minggu 3 ± SD	75.75±28.05	51.92 ± 25.32
- Minggu 4 ± SD	82.26±25.75	68.64 ± 24.64
- Minggu 5 ± SD	86.30±23.33	78.73 ± 23.62
- Minggu 6 ± SD	88.74±22.62	82.89 ± 21.22
- Minggu 7 ± SD	89.73±22.59	85.19 ± 19.75
- Minggu 8 ± SD	90.37±22.81	88.12 ± 17.54
Rerata prosentase berkurangnya dalam ulkus (%)		
- Minggu 1 ± SD	38.03±33.12	14.09 ± 23.99
- Minggu 2 ± SD	54.32±37.93	27.05 ± 29.48

- Minggu 3 ± SD	64.47±36.97	40.98 ± 33.54
- Minggu 4 ± SD	71.97±36.81	50.76 ± 32.61
- Minggu 5 ± SD	78.03±31.14	65.91 ± 34.81
- Minggu 6 ± SD	78.94±31.50	70.15 ± 32.11
- Minggu 7 ± SD	82.27±29.23	71.97 ± 30.89
- Minggu 8 ± SD	84.92±28.34	75.91 ± 32,25

Tabel 5.8 menunjukkan rerata prosentase penyembuhan ulkus tiap minggu pada kedua kelompok penelitian. Rerata prosentase penyembuhan ulkus mengalami peningkatan setiap minggu pada kedua kelompok. Perhitungan rerata prosentase luas dan dalam ulkus tiap minggu ini diperoleh dari rerata luas dan dalam ulkus awal dikurangi rerata luas dan dalam ulkus minggu ke-n, dibagi rerata luas dan dalam ulkus awal, kemudian dikalikan 100%. Data di atas menunjukkan rerata prosentase penyembuhan ulkus setiap minggu dan di akhir pengobatan, baik untuk luas maupun dalam ulkus, lebih besar pada kelompok PM-AMSC + vitamin E dibandingkan kelompok PM-AMSC.

Tabel 5.9. Kemajuan klinis ulkus pada akhir penelitian di Divisi Morbus Hansen URJ Kesehatan Kulit dan Kelamin RSU Dr. Soetomo Surabaya

Kemajuan ulkus pada akhir penelitian	PM-AMSC (n=22)	PM-AMSC + Vit E (n=22)
Sembuh, n (%)	16 (72.7)	12 (54.54)
Membaik, n (%)	5 (18.2)	10 (45.46)
Tetap, n (%)	1 (9.1)	0 (0)
Memburuk, n (%)	0 (0)	0 (0)

Tabel 5.9 menyajikan data kemajuan klinis ulkus pada akhir pengobatan yang diklasifikasikan menjadi sembuh, membaik, tetap atau memburuk. Ulkus dikatakan 'sembuh' bila menutup, 'membaik' apabila ukuran luas atau dalam ulkus berkurang dibandingkan sebelum

mendapat pengobatan, 'tetap' apabila ukuran luas dan dalam ulkus sesudah mendapat pengobatan tidak mengalami perubahan dibandingkan dengan sebelum pengobatan, dan 'memburuk' apabila ukuran luas atau dalam ulkus bertambah pada akhir pengobatan dibandingkan sebelum mendapat pengobatan.

Distribusi kemajuan klinis ulkus pada kelompok PM-AMSC adalah 16 ulkus (72,7%) sembuh, 5 ulkus (18,2%) membaik, dan 1 ulkus (9,1%) berukuran tetap. Didapatkan sebanyak 12 ulkus (54,5%) ulkus sembuh dan 10 ulkus (45,5%) membaik pada kelompok gel PM-AMSC + vitamin E. Tidak didapatkan ulkus yang berukuran tetap maupun memburuk pada kelompok tersebut.

5.3 Perlakuan dengan Pemberian Gel Produk Metabolit AMSC + vitamin C

Penelitian terhadap 44 sampel yang terdiri dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol terdiri dari 22 ulkus yang mendapat pengobatan PM-AMSC, sedangkan kelompok perlakuan terdiri dari 22 ulkus yang mendapat pengobatan gel campuran produk metabolit AMSC (PM-AMSC) + vitamin C. Subjek penelitian merupakan pasien MH dengan ulkus plantar kronis ≥ 3 minggu dengan kedalaman ulkus $\leq 0,5$ cm dan luas luka maksimal 9 cm^2 , tidak mengonsumsi kortikosteroid sistemik dalam 2 minggu terakhir, tidak memiliki riwayat Diabetes Melitus, hemofili atau gangguan faal pembekuan darah maupun penggunaan antiplatelet, tidak memiliki riwayat hipersensitivitas terhadap *dressing* film transparan, *adhesive plester*, *framycetine sulfate*, antibiotik golongan aminoglikosida dan sulfat, memiliki keadaan umum baik, serta bersedia untuk mengikuti penelitian. Pembagian subjek penelitian ke dalam kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dilakukan dengan menggunakan teknik pemilihan pasangan serasi antara kelompok (*matching*) berdasarkan pekerjaan, yang terdiri dari tidak ada risiko (berdiri secara terus menerus selama ≤ 1 jam dan berdiri selama ≤ 4 jam/hari), risiko rendah (berdiri secara terus menerus selama >1 jam atau berdiri selama >4 jam/hari), dan risiko tinggi berdiri

secara terus menerus selama >1 jam dan berdiri selama >4 jam/hari); dan luas luka (<1 cm², 1-4 cm², >4-9 cm²). Dilakukan tindakan *surgical debridement* kepada kedua kelompok penelitian sebelum diberikan pengobatan. *Surgical debridement* ini bertujuan untuk membuang kalus dan jaringan nekrotik serta membuat semua ulkus kembali pada fase penyembuhan yang sama, yaitu fase koagulasi dan inflamasi. Semua subjek pada penelitian ini telah memenuhi kriteria penerimaan serta penolakan sampel, dan bersedia ikut serta dalam penelitian dengan menandatangani *information for consent* dan lembar persetujuan tindakan medis. Dari hasil pengumpulan data, diperoleh karakteristik dasar subjek penelitian yang dipaparkan pada Tabel 5.6.

Subjek penelitian ini terdiri dari 22 perempuan (50,0%) dan 22 laki-laki (50,0%). Kelompok PM-AMSC terdiri dari 13 laki-laki (59,1%) dan 9 perempuan (40,9%), sedangkan pada kelompok gel PM-AMSC + vitamin C terdiri dari 9 laki-laki (40,9%) dan 13 perempuan (59,1%).

Kelompok usia terbanyak yang menderita ulkus kronis MH pada penelitian ini adalah kelompok usia 21-50 tahun sebanyak 24 subjek (54,5%).

Tabel 5.10 Karakteristik dasar subjek penelitian pasien ulkus plantar kronis MH di Divisi Morbus Hansen URJ Kesehatan Kulit dan Kelamin RSU Dr. Soetomo Surabaya

Variabel	Total		Total (n=44)
	PM-AMSC (n=22)	PM-AMSC-VC (n=22)	
Jenis Kelamin			
▪ Laki-laki, n (%)	13 (59.1)	9 (40.9)	22 (50)
▪ Perempuan, n (%)	9 (40.9)	13 (59.1)	22 (50)
Usia (tahun)			
▪ 21 – 50 tahun, n (%)	12 (54.5)	12 (54.5)	24 (54.5)
▪ > 50 tahun, n (%)	10 (45.5)	10 (45.5)	20 (54.5)
Pekerjaan			
▪ Banyak berdiri / berjalan lama, n (%)	11 (50.0)	10 (45.5)	21 (47.7)

▪ Tidak banyak berdiri / berjalan lama, n (%)	11 (50.0)	12 (54.5)	23 (52.3)
Lama ulkus (tahun)			
▪ < 1 tahun, n (%)	6 (27.3)	7 (31.8)	13 (29.5)
▪ 1 – 5 tahun, n (%)	15 (63.6)	15 (68.2)	30 (68.2)
▪ > 5 tahun, n (%)	1 (9.1)	0 (0)	1 (2.3)

FGD: *framycetin gauze dressin*; PM-AMSC: produk metabolit-*amniotic membrane stem cell*; Vit E: vitamin E; SD: standar deviasi

Didapatkan 21 subjek penelitian (47,7%) memiliki pekerjaan dengan risiko tinggi, antara lain petani, pedagang keliling, peternak, dan penarik becak. Sebanyak 23 subjek (52,3%) merupakan ibu rumah tangga dengan pekerjaan risiko rendah sehari-harinya.

Ulkus plantar pada penelitian ini sebagian besar sudah berlangsung selama 1-5 tahun yang terjadi pada 30 subjek (68,2 %), diikuti <1 tahun pada 13 subjek (29,5%). Distribusi lama ulkus pada kelompok kontrol didapatkan frekuensi terbanyak pada kelompok 1-5 tahun, yaitu 15 subjek (68,1%), diikuti kelompok <1 tahun sebanyak 6 subjek (27,3%) dan >5 tahun sebanyak 1 subjek (4,6%). Distribusi lama ulkus pada kelompok perlakuan didapatkan frekuensi terbanyak adalah 1-5 tahun yaitu 15 subjek (68,2%), diikuti kelompok <1 tahun sebanyak 7 subjek (31,8%).

Tabel 5.11. Lokasi ulkus plantar kronis MH pada subjek penelitian di Divisi Morbus Hansen URJ Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya

Distribusi ulkus kronis pada plantar pedis	PM-AMSC (n = 22)	PM-AMSC + Vit C (n = 22)	Jumlah (n = 44)
Telapak kaki depan, n (%)	21 (95,5)	18 (81,8)	39 (88,6)
Digit I, n (%)	1 (4,5)	6 (27,3)	7 (15,9)
Caput metatarsal I, n (%)	12 (45,5)	8 (36,4)	20 (45,5)
Caput metatarsal II-IV, n (%)	7 (31,8)	1 (4,5)	8 (18,2)
Caput metatarsal V, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Basis metatarsal II-III, n (%)	1 (4,5)	4 (18,2)	5 (11,4)

Telapak kaki tengah	1 (4,5)	3 (13,6)	4 (9,1)
Sisi lateral plantar pedis, n (%)	0 (0)	1 (4,5)	1 (2,3)
Sisi medial plantar pedis, n (%)	1 (4,5)	2 (9,1)	3 (6,8)

FGD: *framycetin gauze dressin*; PM-AMSC: produk metabolit-*amniotic membrane stem cell*; Vit E: vitamin E

Distribusi ulkus plantar pedis pada kedua kelompok penelitian didapatkan terbanyak di telapak kaki depan pada 39 orang (88,6%), diikuti telapak kaki tengah pada 4 orang (9,1%), seperti yang terlihat pada Tabel 5.11. Tidak didapatkan ulkus di telapak kaki belakang. Distribusi ulkus pada telapak kaki bagian depan terbanyak pada area caput metatarsal I sebanyak 20 ulkus (45,5%), diikuti oleh caput metatarsal II-IV sebanyak 8 ulkus (18,2%), digiti I sebanyak 7 orang (15,9%) dan basis metatarsal II-III masing-masing 5 orang (11,4%). Didapatkan distribusi ulkus di telapak kaki tengah sebanyak 1 ulkus (2,3%) pada sisi lateral plantar pedis dan sisi medial plantar pedis sebanyak 3 (6,8%).

Tabel 5.12 Prosentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH pada subjek penelitian

Prosentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH	PM-AMSC (n = 22)	PM-AMSC + Vit C (n = 22)
Rerata prosentase berkurangnya luas ulkus (%)		
- Minggu 1 ± SD	43.00±30.90	16.67±19.82
- Minggu 2 ± SD	64.07±30.26	38.65±28.35
- Minggu 3 ± SD	75.75±28.05	55.42±33.60
- Minggu 4 ± SD	82.26±25.75	67.46±32.98
- Minggu 5 ± SD	86.30±23.33	76.28±28.45
- Minggu 6 ± SD	88.74±22.62	81.15±29.20
- Minggu 7 ± SD	89.73±22.59	84.36±24.85
- Minggu 8 ± SD	90.37±22.81	87.80±22.09

Rerata prosentase berkurangnya dalam ulkus (%)		
- Minggu 1 ± SD	54.32±37.93	12.12±17.01
- Minggu 2 ± SD	64.47±36.97	30.68±30.58
- Minggu 3 ± SD	71.97±36.81	47.50±35.91
- Minggu 4 ± SD	78.03±31.14	67.73±29.12
- Minggu 5 ± SD	78.94±31.50	71.29±27.45
- Minggu 6 ± SD	82.27±29.23	79.39±28.91
- Minggu 7 ± SD	84.92±28.34	80.53±28.18
- Minggu 8 ± SD	38.03±33.12	81.44±27.80

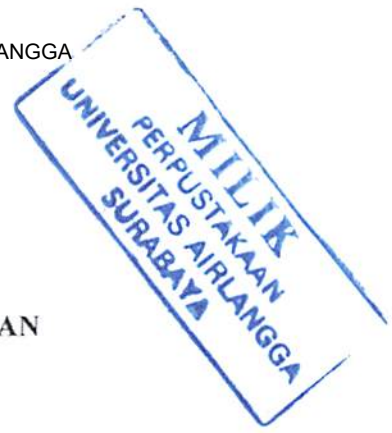
Tabel 5.12 menunjukkan rerata prosentase penyembuhan ulkus tiap minggu pada kedua kelompok penelitian. Rerata prosentase penyembuhan ulkus mengalami peningkatan setiap minggu pada kedua kelompok. Perhitungan rerata prosentase luas dan dalam ulkus tiap minggu ini diperoleh dari rerata luas dan dalam ulkus awal dikurangi rerata luas dan dalam ulkus minggu ke-n, dibagi rerata luas dan dalam ulkus awal, kemudian dikalikan 100%. Data di atas menunjukkan rerata prosentase penyembuhan ulkus setiap minggu dan di akhir pengobatan, baik untuk luas maupun dalam ulkus, lebih besar pada kelompok PM-AMSC + vitamin C dibandingkan kelompok PM-AMSC.

Tabel 5.13. Kemajuan klinis ulkus pada akhir penelitian di Divisi Morbus Hansen URJ Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya

Kemajuan ulkus pada akhir penelitian	PM-AMSC (n=22)	PM-AMSC + Vit C (n=22)
Sembuh, n (%)	16 (72.7)	14 (63.6)
Membaik, n (%)	5 (18.2)	8 (36,4)
Tetap, n (%)	1 (9.1)	0 (0)
Memburuk, n (%)	0 (0)	0 (0)

Tabel 5.13 menyajikan data kemajuan klinis ulkus pada akhir pengobatan yang diklasifikasikan menjadi sembuh, membaik, tetap atau memburuk. Ulkus dikatakan 'sembuh' bila menutup, 'membaik' apabila ukuran luas atau dalam ulkus berkurang dibandingkan sebelum mendapat pengobatan, 'tetap' apabila ukuran luas dan dalam ulkus sesudah mendapat pengobatan tidak mengalami perubahan dibandingkan dengan sebelum pengobatan, dan 'memburuk' apabila ukuran luas atau dalam ulkus bertambah pada akhir pengobatan dibandingkan sebelum mendapat pengobatan.

Distribusi kemajuan klinis ulkus pada kelompok PM-AMSC adalah 16 ulkus (72,7%) sembuh, 5 ulkus (18,2%) membaik, dan 1 ulkus (9,1%) berukuran tetap. Didapatkan sebanyak 14 ulkus (63,6%) ulkus sembuh dan 8 ulkus (36,4%) membaik pada kelompok gel PM-AMSC + vitamin C. Tidak didapatkan ulkus yang berukuran tetap maupun memburuk pada kelompok tersebut.



BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Simpulan

1. Rerata prosentase penyembuhan ulkus setiap minggu didapatkan rerata prosentase yang lebih besar pada kelompok gel PM-AMSC dibandingkan kelompok FGD. Pada penelitian ini didapatkan perbedaan klinis yang bermakna dimana penyembuhan ulkus pada kelompok gel PM-AMSC lebih cepat dibandingkan kelompok FGD.
2. Efek samping berupa dermatitis kontak alergi akibat pemberian FGD maupun gel PM-AMSC tidak didapatkan pada kedua kelompok penelitian.
3. Komplikasi berupa penambahan ukuran luas ulkus terjadi pada 1 subjek penelitian dari kelompok FGD. Hasil analisis pada subjek penelitian ini didapatkan bahwa perburukan ulkus yang terjadi tidak disebabkan secara langsung akibat pemberian FGD, namun lebih disebabkan kelainan struktur anatomi kakinya dimana kaki pasien yang ada ulkus plantarnya mengalami *claw foot*.
4. Gel PM-AMSC + vitamin E menurunkan rerata luas ulkus dibandingkan PM-AMSC
5. Gel PM-AMSC + vitamin E memperbaiki rerata kedalaman ulkus tidak berbeda dengan PM-AMSC
6. Gel PM-AMSC + vitamin E dan PM-MSC dapat menurunkan ukuran ulkus plantar kronis MH dengan meningkatkan rerata penyembuhan luas maupun kedalaman ulkus setiap minggu hingga minggu 8, tetapi proses tersebut lebih besar dan lebih cepat pada kelompok gel PM-AMSC dan vitamin E.
4. Gel PM-AMSC + vitamin C menurunkan rerata luas ulkus dibandingkan PM-AMSC
5. Gel PM-AMSC + vitamin C memperbaiki rerata kedalaman ulkus tidak berbeda dengan PM-AMSC

6. Gel PM-AMSC + vitamin C dan PM-MSC dapat menurunkan ukuran ulkus plantar kronis MH dengan meningkatkan rerata penyembuhan luas maupun kedalaman ulkus setiap minggu hingga minggu 8, tetapi proses tersebut lebih besar dan lebih cepat pada kelompok gel PM-AMSC dan vitamin C.

7.2. Saran

Penelitian dengan menggunakan faktor pertumbuhan (PDGF atau EGF) untuk terapi penyembuhan ulkus pada pasien MH.



DAFTAR PUSTAKA

- Barreto JG, Salgado CG, 2010. Clinic-epidemiological evaluation of ulcers in patients with leprosy sequelae and the effect of low level laser therapy on wound healing: a randomized clinical trial. *BMC Infect Dis*, 237(10): 1-9.
- Bhatt YC, Panse NS, Patel GA, 2009. Free tissue transfer for trophic ulcer complicating leprosy. *Indian J Plast Surg*, 42(1): 115-7.
- Chen L, Tredget EE, Wu PY, G, Wu Y, 2008. Paracrine Factors of Mesenchymal Stem Cells Recruit Macrophages and Endothelial Lineage Cells and Enhance Wound Healing. *Plos one*, 3(4): e1886.
- Departemen Kesehatan RI Direktorat Pelayanan Medik, 2004. Pedoman Operasional Pelayanan Bank Jaringan 2004.
- Diaz-Prado S, Lopez EM, Gomez TH, Vazquez ER, Boquete IF, de Toro FJ, et al, 2011. Isolation and characterization of mesenchymal stem cells from human amniotic membrane. *Tissue Eng Part C Methods*, 17: 49-59.
- Ennis WJ, Sui A, Bartholomew A, 2013. Stem cells and healing: impact on inflammation. *Adv Skin Wound Care*, 2(7): 369-78.
- Fiori G, Galluccio F, Braschi F, Amanzi L, Miniati I, Conforti ML et al. (2009). Vitamin E gel reduces time of healing of digital ulcers in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*;27:51- 4.
- Gahalaut P, Pinto J, Pai GS, Kamath J, Joshua TV, 2005. A novel treatment for plantar ulcers in leprosy: local superficial flaps. *Lepr Rev*, 76: 220-31.
- Havlik RJ. (1997). Vitamin E and wound healing. *Plastic surgery educational*

foundation data committee. *Plast Reconstr Surg*;100:1901-2.

Hatano K, 2011. Prevention and management of impairments and disabilities.

In: Makino M, Matsuoka M, Goto M, Hatano K, editors. *Leprosy-Science working towards dignity*. 1st ed. Kanagawa: Tokai University Press, p.174-85.

Jayaraman P, Nathan P, Vasanthan P, Musa S, Govindasamy V, 2013. Stem cell conditioned medium: a new approach to skin wound healing management.

Cell Bio Int, 37: 122-8.

Kamadjaja DB, Purwati, Rantam FA, Ferdiansyah, Pramono Coen, 2014. The osteogenic capacity of human amniotic membrane mesenchymal stem cell (hAMSC) and potential.

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

No. Kasus	Kelompok	Sex	Usia (th) & brt bdn (kg)	Pekerjaan	Lama & Lokasi Ulkus	Kemajuan Pengobatan	Awal Studi	Mgg I	Mgg II	Mgg III	Mgg IV	Mgg V	Mgg VI	Mgg VII	Mgg VIII			
1	Kontrol	P	54 th 69 kg	Banyak berdiri / berjalan	6 bulan, caput metatarsal I	Luas (cm ²)	1,5	0,5	0,5	1	1	1	2	2,5	3			
						Dalam (cm)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3			
						Prosentase penyembuhan												
						- Luas (%)		66,7	66,7	33,3	33,3	33,3						
						- Dalam (%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
						Efek samping		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
						Komplikasi					Ulkus bertambah luas							
	Komorbid					Claw foot												
	Perlakuan	P	59 th 53 kg	Banyak berdiri / berjalan	5 bulan, caput metatarsal III-IV	Luas (cm ²)	2	0,25	0									
						Dalam (cm)	0,3	0,1	0									
Prosentase penyembuhan																		
- Luas (%)																		

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

						- Dalam (%)		87,5	100						
								66,7	100						
						Efek samping		-	-						
						Komplikasi		-	-						
2	Kontrol	P	54 th 69 kg	Banyak berdiri / berjalan	2 tahun, caput metatarsal I	Luas (cm ²)	4	4	4	4	4	4	4	4	4
						Dalam (cm)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		0	0	0	0	0	0	0	0
						- Dalam (%)		0	0	0	0	0	0	0	0
						Efek samping		-	-	-	-	-	-	-	-
						Komplikasi		-	-	-	-	-	-	-	-

Th = tahun, brt bdn = berat badan, kg = kilogram, mgg = minggu

No. Kasus	Kelompok	Sex	Usia (th) & brt bdn (kg)	Pekerjaan	Lama & Lokasi Ulkus	Kemajuan Pengobatan	Awal Studi	Mgg I	Mgg II	Mgg III	Mgg IV	Mgg V	Mgg VI	Mgg VII	Mgg VII
-----------	----------	-----	--------------------------	-----------	---------------------	---------------------	------------	-------	--------	---------	--------	-------	--------	---------	---------

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

2	Perlakuan	P	40 th 65 kg	Banyak berdiri . berjalan	3 tahun, caput metatarsal II	Luas (cm ²)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
						Dalam (cm)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		0	0	0	0	0	0	0	0
						- Dalam (%)		0	0	0	0	0	0	0	0
						Efek samping		-	-	-	-	-	-	-	-
Komplikasi		-	-	-	-	-	-	-	-						
3	Kontrol	L	47 th 75 kg	Banyak berdiri / berjalan	7 bulan, caput metatarsal I	Luas (cm ²)	2	2	2	2	2	2	2	2	2
						Dalam (cm)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
						Prosentase penyembuhan :									
						- Luas (%)		0	0	0	0	0	0	0	0
						- Dalam (%)		0	0	0	0	0	0	0	0
						Efek samping		-	-	-	-	-	-	-	-

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

						Komplikasi		-	-	-	-	-	-	-	-
	Perlakuan	P	59 th 53 kg	Banyak berdiri / berjalan	6 bulan, phalanx proximal digiti II	Luas (cm ²)	1	0							
						Dalam (cm)	0,3	0							
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		100							
						- Dalam (%)		100							
						Efek samping		-							
						Komplikasi		-							

Th = tahun, brt bdn = berat badan, kg = kilogram, mgg = minggu

No. Kasus	Kelompok	Sex	Usia (th) & brt bdn (kg)	Pekerjaan	Lokasi & Lama Ulkus	Kemajuan Pengobatan	Awal Studi	Mgg I	Mgg II	Mgg III	Mgg IV	Mgg V	Mgg VI	Mgg VII	Mgg VIII

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

4	Kontrol	P	60 th 58 kg	Tidak banyak berdiri / berjalan	1 tahun, caput metatarsal V	Luas (cm ²)	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25	0,25
						Dalam (cm)	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		50	50	50	50	50	50	75	75
						- Dalam (%)		0	25	25	25	50	50	50	50
						Efek samping		-	-	-	-	-	-	-	-
	Komplikasi		-	-	-	-	-	-	-	-					
	Perlakuan	P	43 th 59 kg	Tidak banyak berdiri / berjalan	6 bulan, sisi medial plantar pedis	Luas (cm ²)	1	0,5	0						
						Dalam (cm)	0,5	0,2	0						
						Prosentase penyembuhan									
- Luas (%)							50	100							
- Dalam (%)		60	100												
Efek samping		-	-												

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

						Komplikasi		-	-						
5	Kontrol	P	48 th 59 kg	Tidak banyak berdiri / berjalan	6 bulan, caput metatarsal III	Luas (cm ²)	1	1	1	1	1	1	1	1	1
						Dalam (cm)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		0	0	0	0	0	0	0	0
						- Dalam (%)		0	0	0	0	0	0	0	0
						Efek samping		-	-	-	-	-	-	-	-
						Komplikasi		-	-	-	-	-	-	-	-

Th = tahun, brt bdn = berat badan, kg = kilogram, mgg = minggu

No. Kasus	Kelompok	Sex	Usia (th) & brt bdn (kg)	Pekerjaan	Lokasi & Lama Ulkus	Riwayat Pengobatan	Awal Studi	Mgg I	Mgg II	Mgg III	Mgg IV	Mgg V	Mgg VI	Mgg VII	Mgg VIII
5	Perlakuan	L	59 th	Tidak	2 tahun,	Luas (cm ²)	1	0,5	0,25	0					

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

			60 kg	banyak berdiri / berjalan	caput metatarsal I	Dalam (cm)	0,5	0,3	0,2	0					
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		50	75	100					
						- Dalam (%)		40	60	100					
						Efek samping		-	-	-					
						Komplikasi		-	-	-					
6	Kontrol	P	51 th 62 kg	Banyak berdiri / berjalan	1 tahun, basis metatarsal V	Luas (cm ²)	1,5	1	0,75	0,75	0,5	0,5	0,25	0,25	0,25
						Dalam (cm)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,1
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		33,3	50	50	66,7	66,7	83,3	83,3	83,3
						- Dalam (%)		0	0	0	0	0	33,3	33,3	66,7
						Efek samping		-	-	-	-	-	-	-	-
						Komplikasi		-	-	-	-	-	-	-	-

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

	Perlakuan	L	56 th 65 kg	Banyak berdiri / berjalan	6 tahun, caput metatarsal II-III	Luas (cm ²)	3	1,5	1,5	1,5	1	1	1	1	0,75
						Dalam (cm)	0,4	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		50	50	50	66,7	66,7	66,7	66,7	75
						- Dalam (%)		25	25	25	50	50	50	50	75
						Efek samping		-	-	-	-	-	-	-	-
						Komplikasi		-	-	-	-	-	-	-	-

Th = tahun, brt bdn = berat badan, kg = kilogram, mgg = minggu

No. Kasus	Kelompok	Sex	Usia (th) & brt bdn (kg)	Pekerjaan	Lama & Lokasi Ulkus	Kemajuan Pengobatan	Awal Studi	Mgg I	Mgg II	Mgg III	Mgg IV	Mgg V	Mgg VI	Mgg VII	Mgg VIII
7	Kontrol	P	37 th 55 kg	Tidak banyak berjalan /	1 tahun, caput	Luas (cm ²)	4	3,5	3	3	3	2,5	2,5	2	2
						Dalam (cm)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,4	0,3	0,3

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

			berdiri	metatarsal III-IV	Prosentase penyembuhan - Luas (%) - Dalam (%)	12,5 0	25 0	25 0	25 0	37,5 20	37,5 20	50 40	50 40
					Efek samping	-	-	-	-	-	-	-	-
					Komplikasi	-	-	-	-	-	-	-	-
Perlakuan	P	55 th 65 kg	Tidak banyak berdiri / berjalan	2 tahun, caput metatarsal I	Luas (cm ²)	3	2	1	0,5	0			
					Dalam (cm)	0,5	0,4	0,3	0,2	0			
					Prosentase penyembuhan - Luas (%) - Dalam (%)		33,3 20	66,7 40	83,3 60	100 100			
					Efek samping		-	-	-	-			
					Komplikasi		-	-	-	-			

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

8	Kontrol	L	47 th 75 kg	Banyak berdiri / berjalan	1 tahun, caput metatarsal III	Luas (cm ²)	3	2	1	1	0,75	0,5	0,5	0,5	0,5				
						Dalam (cm)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3				
						Prosentase penyembuhan													
						- Luas (%)		33,3	66,7	66,7	75	83,3	83,3	83,3	83,3				
						- Dalam (%)		0	0	0	20	20	20	40	40				
						Efek samping		-	-	-	-	-	-	-	-				
						Komplikasi		-	-	-	-	-	-	-	-				
Komorbid																			

Th = tahun, brt bdn = berat badan, kg = kilogram, mgg = minggu

No. Kasus	Kelompok	Sex	Usia (th) & brt bdn (kg)	Pekerjaan	Lama & Lokasi Ulkus	Kemajuan Pengobatan	Awal Studi	Mgg I	Mgg II	Mgg III	Mgg IV	Mgg V	Mgg VI	Mgg VII	Mgg VIII
8	Perlakuan	L	47 th 65 kg	Banyak berdiri /	5 tahun, basis	Luas (cm ²)	2,5	2	1,5	1	1	0,75	0,5	0,5	0,25
						Dalam (cm)	0,5	0,5	0,5	0,4	0,4	0,3	0,3	0,2	0,2

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

				berjalan	metatarsal II-III	Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%) - Dalam (%)	20	40	60	60	70	80	80	90	
							0	0	20	20	40	40	80	80	
						Efek samping	-	-	-	-	-	-	-	-	
						Komplikasi	-	-	-	-	-	-	-	-	
9	Kontrol	L	56 th 67 kg	Tidak banyak berdiri / berjalan	1 tahun, caput metatarsal I	Luas (cm ²)	1	0,5	0,25	0					
						Dalam (cm)	0,4	0,3	0,2	0					
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%) - Dalam (%)	50	75	100						
							25	50	100						
						Efek samping	-	-	-						
						Komplikasi	-	-	-						

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

	Perlakuan	L	47 th 65 kg	Tidak banyak berdiri / berjalan	1 tahun, caput metatarsal I	Luas (cm ²)	1	0,25	0						
						Dalam (cm)	0,5	0,2	0						
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		75	100						
						- Dalam (%)		60	100						
						Efek samping		-	-						
Komplikasi		-	-												

Th = tahun, brt bdn = berat badan, kg = kilogram, mgg = minggu

No. Kasus	Kelompok	Sex	Usia (th) & brt bdn (kg)	Pekerjaan	Lama & Lokasi Ulkus	Kemajuan Pengobatan	Awal Studi	Mgg I	Mgg II	Mgg III	Mgg IV	Mgg V	Mgg VI	Mgg VII	Mgg VIII
10	Kontrol	L	65 th 75 th	Tidak banyak berdiri / berjalan	1 tahun, caput metatarsal I	Luas (cm ²)	0,75	0,5	0,25	0					
						Dalam (cm)	0,3	0,2	0,1	0					
						Prosentas penyembuhan									

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

						- Luas (%) - Dalam (%)	50 33,3	75 66,7	100 100						
						Efek samping	-	-	-						
						Komplikasi	-	-	-						
	Perlakuan	P	36 th 73 kg	Tidak banyak berdiri / berjalan	2 tahun, caput metatarsal III	Luas (cm ²)	0,5	0							
						Dalam (cm)	0,3	0							
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%) - Dalam (%)		100 100							
						Efek samping		-							
						Komplikasi		-							
11	Kontrol	P	54 th	Banyak	2 tahun, EFIKASI PEMBERIAN TOPIKAL	Luas (cm ²)	1	1	1	1	1	1	1	1	1
LAPORAN	PENELITIAN				PRODUK....										CITA ROSITA SIGIT P.

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

			69 kg	berdiri / berjalan	basis metatarsal V	Dalam (cm)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		0	0	0	0	0	0	0	0
						- Dalam (%)		0	0	0	0	0	0	0	0
						Efek samping		-	-	-	-	-	-	-	-
						Komplikasi		-	-	-	-	-	-	-	-

Th = tahun, brt bdn = berat badan, kg = kilogram, mgg = minggu

No. Kasus	Kelompok	Sex	Usia (th) & brt bdn (kg)	Pekerjaan	Lama & Lokasi Ulkus	Kemajuan Pengobatan	Awal Studi	Mgg I	Mgg II	Mgg III	Mgg IV	Mgg V	Mgg VI	Mgg VII	Mgg VIII
11	Perlakuan	L	45 th 65 kg	Banyak berdiri / berjalan	2 tahun, caput metatarsal I	Luas (cm ²)	1	0,75	0,5	0,25	0				
						Dalam (cm)	0,5	0,4	0,3	0,2	0				
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)									
						- Dalam (%)									

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

				berjalan	III-IV	Prosentase penyembuhan											
						- Luas (%)		12,5	25	37,5	50	62,5	75	75	62,5		
						- Dalam (cm)		20	40	40	40	60	60	60	60		
						Efek samping	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
						Komplikasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

Th = tahun, brt bdn = berat badan, kg = kilogram, mgg = minggu

No. Kasus	Kelompok	Sex	Usia (th) & brt bdn (kg)	Pekerjaan	Lama & Lokasi Ulkus	Kemajuan Pengobatan	Awal Studi	Mgg I	Mgg II	Mgg III	Mgg IV	Mgg V	Mgg VI	Mgg VII	Mgg VIII
13	Kontrol	P	52 th, 62 kg	Tidak banyak berdiri / berjalan	2 tahun, sisi lateral plantar pedis	Luas (cm ²)	0,75	0,75	0,75	0,75	0,25	0			
						Dalam (cm)	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	0			
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		0	25	25	75	100			
						- Dalam (cm)									

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

						penyembuhan											
						- Luas (%)		0	0	0	0	0	33,3	33,3	33,3		
						- Dalam (cm)		0	0	0	0	0	0	0	0		
						Efek samping	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
						Komplikasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

Th = tahun, brt bdn = berat badan, kg = kilogram, mgg = minggu

No. Kasus	Kelompok	Sex	Usia (th) & brt bdn (kg)	Pekerjaan	Lama & Lokasi Ulkus	Kemajuan Pengobatan	Awal Studi	Mgg I	Mgg II	Mgg III	Mgg IV	Mgg V	Mgg VI	Mgg VII	Mgg VIII
14	Perlakuan	P	55 th, 65 kg	Tidak banyak berdiri / berjalan	1 tahun, caput metatarsal I	Luas (cm ²)	1,5	0,75	0,5	0,5	0,5	0,25	0		
						Dalam (cm)	0,5	0,4	0,3	0,3	0,2	0,1	0		
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		50	66,7	66,7	66,7	83,3	100		
						- Dalam (cm)		20	40	40	60	80	100		

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

						Efek samping	-	-	-	-	-	-	-		
						Komplikasi	-	-	-	-	-	-	-		
15	Kontrol	L	71 th, 50 kg	Tidak banyak berdiri / berjalan	1 tahun 6 bulan, caput metatarsal I	Luas (cm ²)	0,75	0,75	0,75	0,75	0,5	0,5	0,5	0,25	0,25
						Dalam (cm)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		0	0	0	33,3	33,3	33,3	66,7	66,7
						- Dalam (cm)		0	0	0	0	0	0	50	50
						Efek samping	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Komplikasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
	Perlakuan	L	49 th, 75 kg	Tidak banyak berdiri / berjalan	1 tahun, caput metatarsal III	Luas (cm ²)	0,75	0,75	0,5	0					
						Dalam (cm)	0,4	0,3	0,2	0					
						Prosentase penyembuhan									

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

						- Dalam (cm)		0	50	100					
								25	50	100					
						Efek samping	-	-	-	-					
						Komplikasi	-	-	-	-					

Th = tahun, brt bdn = berat badan, kg = kilogram, mgg = minggu

No. Kasus	Kelompok	Sex	Usia (th) & brt bdn (kg)	Pekerjaan	Lama & Lokasi Ulkus	Kemajuan Pengobatan	Awal	Mgg I	Mgg II	Mgg III	Mgg IV	Mgg V	Mgg VI	Mgg VII	Mgg VIII
16	Kontrol	L	49 th, 65 kg	Banyak berdiri / berjalan	1 tahun, basis metatarsal II-IV	Luas (cm ²)	4	4	4	4	4	4	4	4	4
						Dalam (cm)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		0	0	0	0	0	0	0	0
						- Dalam (cm)		0	0	0	0	0	0	0	0
						Efek samping	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

						Komplikasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Perlakuan	P	55 th, 67 kg	Banyak berdiri / berjalan	2 tahun, caput metatarsal I	Luas (cm ²)	3	2	1,5	1,5	1	0,75	0,5	0,25	0
						Dalam (cm)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,1	0
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		33,3	50	50	66,7	75	83,3	91,6	100
						- Dalam (cm)		0	0	0	0	33,3	33,3	66,7	100
						Efek samping	-	-	-	-	-	-	-	-	-
						Komplikasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	Kontrol	P	55 th, 67 kg	Banyak berdiri / berjalan	6 bulan, caput metatarsal III-IV	Luas (cm ²)	3	2,5	2	1,5	1	1	0,5	0	
						Dalam (cm)	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0	
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		16,7	33,3	50	66,7	66,7	83,3	100	
						- Dalam (cm)									

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

								33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	100	
							Efek samping	-	-	-	-	-	-	-	-
							Komplikasi	-	-	-	-	-	-	-	-

Th = tahun, brt bdn = berat badan, kg = kilogram, mgg = minggu

No. Kasus	Kelompok	Sex	Usia (th) & brt bdn (kg)	Pekerjaan	Lama & Lokasi Ulkus	Kemajuan Pengobatan	Awal	Mgg I	Mgg II	Mgg III	Mgg IV	Mgg V	Mgg VI	Mgg VII	Mgg VIII
17	Perlakuan	L	38 th, 65 kg	Banyak berdiri / berjalan	2 tahun, medial plantar pedis	Luas (cm ²)	4	3,5	3	2,5	2	1	1	1	1
						Dalam (cm)	0,5	0,5	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		12,5	25	37,5	50	75	75	75	75
						- Dalam (cm)		0	20	20	20	40	40	40	40
						Efek samping	-	-	-	-	-	-	-	-	-
						Komplikasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

18	Kontrol	P	48 th, 55 kg	Tidak banyak berdiri / berjalan	1 tahun, caput metatarsal III	Luas (cm ²)	2	2	0,5	0,5	0						
						Dalam (cm)	0,5	0,5	0,3	0,2	0						
						Prosentase penyembuhan											
						- Luas (%)		0	75	75	100						
						- Dalam (cm)		0	40	60	100						
						Efek samping	-	-	-	-	-						
	Komplikasi	-	-	-	-	-											
	Perlakuan	L	48 th, 70 kg	Tidak banyak berdiri / berjalan	6 bulan, caput metatarsal II-IV	Luas (cm ²)	2,5	2	1	1	0,25	0					
						Dalam (cm)	0,5	0,3	0,3	0,2	0,1	0					
						Prosentase penyembuhan											
- Luas (%)							20	60	60	90	100						
- Dalam (cm)		40	40	60	80	100											

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

						Efek samping	-	-	-	-	-	-			
						Komplikasi	-	-	-	-	-	-			

Th = tahun, brt bdn = berat badan, kg = kilogram, mgg = minggu

No. Kasus	Kelompok	Sex	Usia (th) & brt bdn (kg)	Pekerjaan	Lama & Lokasi Ulkus	Kemajuan Pengobatan	Awal	Mgg I	Mgg II	Mgg III	Mgg IV	Mgg V	Mgg VI	Mgg VII	Mgg VIII		
19	Kontrol	P	55 th, 59 kg	Banyak berdiri / berjalan	1 tahun 6 bulan, sisi lateral plantar pedis	Luas (cm ²)	3	1,5	1	0,25	0						
						Dalam (cm)	0,3	0,2	0,2	0,1	0						
						Prosentase penyembuhan											
						- Luas (%)		50	66,7	91,7	100						
						- Dalam (cm)		33,3	33,3	66,7	100						
						Efek samping	-	-	-	-	-						
Komplikasi	-	-	-	-	-												

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

	Perlakuan	P	48 th, 59 kg	Banyak berdiri / berjalan	6 bulan, caput metatarsal II-III	Luas (cm ²)	4	2,5	2	1	0,75	0,5	0,25	0	
						Dalam (cm)	0,5	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0	
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		37,5	50	75	81,2	87,5	87,5	100	
						- Dalam (cm)		60	60	60	66,7	66,7	66,7	100	
						Efek samping	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Komplikasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-						
20	Kontrol	P	55 th, 67 kg	Banyak berdiri / berjalan	2 tahun, caput metatarsal I	Luas (cm ²)	4	4	3	2,5	2,5	2	2	2	2
						Dalam (cm)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		0	25	37,5	37,5	50	50	50	50
						- Dalam (cm)		0	0	0	0	33,3	33,3	33,3	33,3
Efek samping	-	-	-	-	-	-	-	-	-						

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

						Komplikasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
--	--	--	--	--	--	------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Th = tahun, brt bdn = berat badan, kg = kilogram, mgg = minggu

No. Kasus	Kelompok	Sex	Usia (th) & brt bdn (kg)	Pekerjaan	Lama & Lokasi Ulkus	Kemajuan Pengobatan	Awal	Mgg I	Mgg II	Mgg III	Mgg IV	Mgg V	Mgg VI	Mgg VII	Mgg VIII
20	Perlakuan	P	41 th, 65 kg	Banyak berdiri / berjalan	3 tahun, caput metatarsal II	Luas (cm ²)	3,5	3	2	1	0,75	0,75	0,75	0,5	0,5
						Dalam (cm)	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
						Prosentase penyembuhan									
						- Luas (%)		14,3	42,8	71,4	78,6	78,6	78,6	85,7	85,7
						- Dalam (cm)		0	0	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3
						Efek samping	-	-	-	-	-	-	-	-	-
						Komplikasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	Kontrol	P	38 th,	Tidak	1 tahun 6	Luas (cm ²)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,25	1,25

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

		55 kg	banyak berdiri / berjalan	bulan, caput metatarsal IV	Dalam (cm)	0,5	0,5	0,4	0,3	0,3	0,4	0,4	0,3	0,3
					Prosentase penyembuhan									
					- Luas (%)		0	0	0	0	0	0	16,7	16,7
					- Dalam (cm)		0	20	40	40	20	20	40	40
					Efek samping	-	-	-	-	-	-	-	-	-
					Komplikasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Perlakuan	L	59 th, 63 kg	Tidak banyak berdiri / berjalan	6 bulan, caput metatarsal III	Luas (cm ²)	2	1	0						
					Dalam (cm)	0,3	0,2	0						
					Prosentase penyembuhan									
					- Luas (%)		50	100						
					- Dalam (cm)		33,3	100						
					Efek samping	-	-	-	-	-	-	-	-	-
					Komplikasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

Th = tahun, brt bdn = berat badan, kg = kilogram, mgg = minggu

No. Kasus	Kelompok	Sex	Usia (th) & brt bdn (kg)	Pekerjaan	Lama & Lokasi Ulkus	Kemajuan Pengobatan	Awal	Mgg I	Mgg II	Mgg III	Mgg IV	Mgg V	Mgg VI	Mgg VII	Mgg VIII			
22	Kontrol	L	55 th, 65 kg	Banyak berdiri / berjalan	1 tahun, caput metatarsal III	Luas (cm ²)	1	1	1	1	0,75	0,75	0,5	0,5	0			
						Dalam (cm)	0,5	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0			
						Prosentase penyembuhan												
						- Luas (%)		0	0	0	25	25	50	50	100			
						- Dalam (cm)		20	40	40	40	40	60	60	100			
						Efek samping	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
						Komplikasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Perlakuan	P	55 th, 67 kg	Banyak berdiri /	2 tahun, caput	Luas (cm ²)	1	0											
					Dalam (cm)	0,3	0											

Lampiran 1. Data Sampel Penelitian Gel PM-AMSC dan Kontrol

				berjalan	metatarsal I	Prosentase penyembuhan - Luas (%) - Dalam (cm)		100								
								100								
						Efek samping	-	-								
						Komplikasi	-	-								

Lampiran 2. Kelompok perlakuan II (gel PM_AMSC + Vit E)

	Jenis Kelamin	Usia (tahun)	Berat Badan (kg)	Pekerjaan	Awal Studi	Minggu I	Minggu II	Minggu III	Minggu IV	Minggu V	Minggu VI	Minggu VII	Minggu VIII	
Kasus 1	L	62	60	risiko tinggi	Luas luka	2	1.5	0.5	0					
					Dalam Luka	0.3	0.2	0.1	0					
Kasus 2	P	64	50	risiko rendah	Luas luka	2.5	0.5	0						
					Dalam Luka	0.2	0.1	0						
Kasus 3	L	70	52	risiko rendah	Luas luka	4	3	2.5	1.75	0.5	0			
					Dalam Luka	0.4	0.4	0.3	0.3	0.2	0			
Kasus 4	P	52	66	risiko rendah	Luas luka	3.5	3	2.5	2	2	1.75	1.75	1.75	1.5
					Dalam Luka	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Kasus 5	P	58	62	risiko tinggi	Luas luka	4	3.75	3.75	3.5	3.5	3	2.75	2.5	2.25
					Dalam Luka	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4	0.4	0.4	0.3	0.3
Kasus 6	P	42	70	risiko tinggi	Luas luka	2.5	2	1.5	0.5	0				
					Dalam Luka	0.5	0.4	0.4	0.2	0				
Kasus 7	P	64	50	risiko tinggi	Luas luka	3	3	2.75	2	1.5	1.25	1	0.75	0.5
					Dalam Luka	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1
Kasus 8	P	64	50	risiko rendah	Luas luka	4	3.75	3.5	3.25	3	2.75	2.5	2.25	2
					Dalam Luka	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2
Kasus 9	L	60	58	risiko tinggi	Luas luka	3.5	2.5	2	2	1.75	1.5	1	1	0.5
					Dalam Luka	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Kasus 10	P	65	52	risiko tinggi	Luas luka	3.5	2.5	2	1.5	0.5	0			
					Dalam Luka	0.5	0.4	0.3	0.3	0.2	0			
Kasus 11	P	64	58	risiko rendah	Luas luka	2	0							
					Dalam Luka	0.3	0							
Kasus 12	P	40	50	risiko tinggi	Luas luka	4.2	3.6	2.5	2	1.6	1	0.6	0.3	0
					Dalam Luka	0.3	0.3	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0

Kasus 13	L	66	56	risiko tinggi	Luas luka	3	3	2.6	2.16	0.72	0.66	0.5	0.3	0.2
					Dalam Luka	0.5	0.5	0.5	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1
Kasus 14	L	60	60	risiko rendah	Luas luka	2.7	2.7	2.34	1.98	0.25	0.19	0.09	0.05	0
					Dalam Luka	0.5	0.4	0.4	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0
Kasus 15	P	58	54	risiko tinggi	Luas luka	7.5	7	6	1.3	0.48	0.3	0.2	0.2	0.2
					Dalam Luka	0.5	0.5	0.4	0.3	0.3	0.2	0.1	0.1	0.1
Kasus 16	L	56	56	risiko rendah	Luas luka	1.76	1.54	1	0.9	0.75	0.5	0.3	0.3	0.3
					Dalam Luka	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Kasus 17	P	50	56	risiko tinggi	Luas luka	2.52	2.31	2	1.5	0.99	0.6	0.3	0.1	0
					Dalam Luka	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0
Kasus 18	L	53	54	risiko tinggi	Luas luka	1.5	1.5	1.3	0.75	0.3	0			
					Dalam Luka	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0			
Kasus 19	L	50	60	risiko rendah	Luas luka	0.5	0.5	0.5	0.24	0.15	0			
					Dalam Luka	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0			
kasus 20	P	48	50	risiko rendah	Luas luka	8.75	8.75	7	4.59	3.75	3	2.4	2.1	2
					Dalam Luka	0.5	0.5	0.4	0.4	0.4	0.3	0.2	0.2	0.2
Kasus 21	P	47	50	risiko rendah	Luas luka	0.75	0.75	0.5	0.4	0.25	0			
					Dalam Luka	0.3	0.3	0.2	0.1	0.1	0			
Kasus 22	P	50	56	risiko rendah	Luas luka	6.25	6.25	5	4.8	3.6	2.89	2.5	2.3	2
					Dalam Luka	0.5	0.5	0.5	0.4	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2
Mean					Before:	3.36						After:	0.62	
SD					Before:	2.002						After:	0.878	

Lampiran 3. Kelompok perlakuan III (gel PM_AMSC + Vit C)

	Jenis Kelamin	Usia (tahun)	Berat Badan (kg)	Pekerjaan		Awal Studi	Minggu I	Minggu II	Minggu III	Minggu IV	Minggu V	Minggu VI	Minggu VII	Minggu VIII
Kasus 1	L	40	60	risiko rendah	Luas luka	1.5	1	0.5	0					
					Dalam Luka	0.3	0.2	0.1	0					
Kasus 2	P	52	56	risiko rendah	Luas luka	1	0.5	0.2	0.1	0				
					Dalam Luka	0.2	0.2	0.1	0.1	0				
Kasus 3	L	56	70	risiko rendah	Luas luka	1.5	0.6	0.4	0.2	0.1	0			
					Dalam Luka	0.4	0.3	0.2	0.1	0.1	0			
Kasus 4	P	49	54	risiko rendah	Luas luka	1.5	1	0.5	0					
					Dalam Luka	0.3	0.2	0.1	0					
Kasus 5	P	44	50	risiko tinggi	Luas luka	2.5	2.5	2	2	1	0.4	0		
					Dalam Luka	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0		
Kasus 6	P	40	50	risiko tinggi	Luas luka	4	3.2	2.8	2	1	0.5	0		
					Dalam Luka	0.3	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0		
Kasus 7	L	48	60	risiko rendah	Luas luka	2	1.7	0.8	0					
					Dalam Luka	0.4	0.3	0.2	0					
Kasus 8	L	52	58	risiko rendah	Luas luka	2	1.5	0						
					Dalam Luka	0.2	0.1	0						
Kasus 9	L	60	68	risiko tinggi	Luas luka	3	2.5	2	2	2	1.5	1.5	1.5	1
					Dalam Luka	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
kasus 10	P	56	60	risiko rendah	Luas luka	1	0.7	0.4	0					
					Dalam Luka	0.3	0.2	0.1	0					
Kasus 11	P	40	56	risiko rendah	Luas luka	4	2	1.4	1	0				
					Dalam Luka	0.3	0.2	0.1	0.1	0				
kasus 12	L	44	78	risiko tinggi	Luas luka	0.7	0.7	0.63	0.56	0.48	0.2	0		
					Dalam Luka	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0		
Kasus 13	L	43	68	risiko	Luas luka	0.6	0.4	0.35	0.28	0.2	0.1	0		

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

				tinggi	Dalam Luka	0.3	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0		
Kasus 14	P	62	60	risiko	Luas luka	3	3	2.2	1.8	1	0.7	0.4	0.3	0.2
				tinggi	Dalam Luka	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Kasus 15	P	68	64	risiko	Luas luka	4.9	4.9	3.9	3.9	3.9	3	2.7	2.5	2
				tinggi	Dalam Luka	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Kasus 16	P	56	60	risiko	Luas luka	5.67	5.67	4.86	3.4	2.89	2.5	2.6	1.6	0.5
				tinggi	Dalam Luka	0.4	0.4	0.4	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1
Kasus 17	P	38	54	risiko	Luas luka	0.5	0.5	0.3	0.1	0				
				rendah	Dalam Luka	0.1	0.1	0.1	0.1	0				
Kasus 18	L	40	60	risiko	Luas luka	1.3	1.3	1.2	1.1	0.09	0.05	0		
				rendah	Dalam Luka	0.4	0.4	0.3	0.3	0.1	0.1	0		
Kasus 19	P	51	66	risiko	Luas luka	1.65	1.65	1.5	1.04	1.04	0.6	0.4	0.3	0.2
				tinggi	Dalam Luka	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Kasus 20	P	53	64	risiko	Luas luka	8.4	8.4	8.4	6.75	6.75	6.75	6.5	6.5	6.5
				tinggi	Dalam Luka	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Kasus 21	P	45	58	risiko	Luas luka	3.5	3.5	3	3	3	3	3	1.7	1
				rendah	Dalam Luka	0.5	0.5	0.5	0.4	0.4	0.3	0.2	0.2	0.1
Kasus 22	L	48	62	risiko	Luas luka	3.96	3.96	3.52	3	3	2.5	2.5	2.4	2.4
				rendah	Dalam Luka	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Mean					Before:	2.64					Before	0.976		
SD					After	1.943					After	1.640		



The efficacy of topical human amniotic membrane-mesenchymal stem cell-conditioned medium (hAMMSC-CM) and a mixture of topical hAMMSC-CM + vitamin C and hAMMSC-CM + vitamin E on chronic plantar ulcers in leprosy: a randomized control trial

C. R. S Prakoeswa, F. R. Natallya, D. Harnindya, A. Thohiroh, R. N. Oktaviyanti, K. D. Pratiwi, M. A. Rubianti, B. Yogatri, P. I. Primasari, N. Herwanto, M. D. Alinda, B. H. Kusumaputra, L. Astari, M. Y. Listiawan, I. Agusni & F. A. Rantam

To cite this article: C. R. S Prakoeswa, F. R. Natallya, D. Harnindya, A. Thohiroh, R. N. Oktaviyanti, K. D. Pratiwi, M. A. Rubianti, B. Yogatri, P. I. Primasari, N. Herwanto, M. D. Alinda, B. H. Kusumaputra, L. Astari, M. Y. Listiawan, I. Agusni & F. A. Rantam (2018) The efficacy of topical human amniotic membrane-mesenchymal stem cell-conditioned medium (hAMMSC-CM) and a mixture of topical hAMMSC-CM + vitamin C and hAMMSC-CM + vitamin E on chronic plantar ulcers in leprosy: a randomized control trial, *Journal of Dermatological Treatment*, 29:8, 835-840, DOI: [10.1080/09546634.2018.1467541](https://doi.org/10.1080/09546634.2018.1467541)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/09546634.2018.1467541>



Accepted author version posted online: 19 Apr 2018.
Published online: 10 May 2018.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 38




View Crossmark data [↗](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=ijdt20>

ARTICLE

 Check for updates

The efficacy of topical human amniotic membrane-mesenchymal stem cell-conditioned medium (hAMMSC-CM) and a mixture of topical hAMMSC-CM + vitamin C and hAMMSC-CM + vitamin E on chronic plantar ulcers in leprosy: a randomized control trial

C. R. S Prakoeswa^a , F. R. Natallya^a, D. Harnindya^d, A. Thohiroh^d, R. N. Oktaviyanti^d, K. D. Pratiwi^d, M. A. Rubianti^d, B. Yogatri^a, P. I. Primasari^a, N. Herwanto^a, M. D. Alinda^d, B. H. Kusumaputra^d, L. Astari^d, M. Y. Listiawan, I. Agusni^a and F. A. Rantam^{b,c}

^aDepartment of Dermatology-Venereology, Dr. Soetomo Teaching Hospital/School of Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia;

^bStem Cell Research and Development Center, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia; ^cVirology and Immunology Laboratory, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

ABSTRACT

Background: Healing of chronic plantar ulcers in leprosy (CPUL) typically takes a long time due to impaired neurological function, thereby reducing the levels of growth factors and cytokines. Cytokines can be found in metabolite products from amniotic membrane stem cells. Chronic ulcers are frequently characterized by high levels of reactive oxygen species. Vitamin E (α -tocopherol) is widely used in skin lesions, owing to its antioxidant and anti-inflammatory properties. Vitamin C also has antioxidant, anti-inflammatory, and collagen synthesis properties which are useful in wound healing. Herein, we compared the effects of topical human amniotic membrane-mesenchymal stem cell-conditioned medium (hAMMSC-CM) alone and with vitamins C and E on healing of CPUL.

Methods: In this randomized controlled trial, topical agents were applied every 3 days for up to 8 weeks. Ulcer size, side-effects, and possible complications were monitored weekly.

Results: Healing percentage increased each week in all groups. Mean difference in ulcer size was highest in the hAMMSC-CM + vitamin E group, implying better progress of wound healing. There were no side-effects or complications.

Conclusions: hAMMSC-CM + vitamin E is best for healing of CPUL.

ARTICLE HISTORY

Received 27 March 2018
 Accepted 6 April 2018

KEYWORDS

hAMMSC-CM; vitamin E; vitamin C; chronic plantar ulcers in leprosy

Introduction

Ulcers are defined as loss of continuity of skin tissue up to the dermis or deeper (subcutis). Approximately 30% of patients with leprosy have peripheral nerve damage, and 10–20% of them have neuropathic ulcers due to peripheral nerve damage. Leprosy ulcers are present mostly in plantar pedis, particularly in areas with bony prominence. The plantar pedis is a part of the body that functions in walking; thus, the risk of experiencing trauma is greater in this area than in other body parts (1–3). Healing of plantar ulcers in leprosy is often difficult and time-consuming due to decreasing levels of growth factors and cytokines as a result of a prolonged inflammatory condition. The inflammatory condition can be caused by infection and ischemia due to persistent pressure on the wound from disruption of nerve functions. This causes obstruction of the wound-healing process and formation of a chronic ulcer (4–8).

Since the early twentieth century, amniotic membranes have been used to treat widespread injuries, burns, chronic and deep ulcers, and surgical wounds that are difficult to close. Studies on amniotic membrane stem cells for repair and regeneration of cells have shown good results. The production of growth factors and cytokines, which are required for tissue healing, is one of the mechanisms of stem cells in the tissue-healing process. Growth factors and cytokines can be found in the tissue medium of stem

cells in *in vitro* conditions through its metabolite products, and thus they can be a useful modality in the process of cell regeneration (9–14).

Previous research has proven that injuries that are difficult to heal in humans are associated with high levels of oxidative stress. Wounds or chronic ulcers often show increasing levels of reactive oxygen species (ROS) or free radicals that can delay the wound-healing process and inhibit formation of granulation tissue and epithelialization. Free radicals are formed in response to tissue damage and subsequently inhibit the recovery process by attacking DNA, membranes, proteins, and lipids from cells. Antioxidants are believed to repair wounds by reducing damage caused by free radicals released by neutrophils in the inflammatory phase of wound healing (15–17).

Prakoeswa et al. (18) compared the effects of topical human amniotic membrane-mesenchymal stem cell-conditioned medium (hAMMSC-CM) and the framycetin gauze dressing (FGD) applied every 3 days for up to 8 weeks on healing of chronic plantar ulcers in leprosy (CPUL). Ulcer healing was significantly better in the hAMMSC-CM group than in the FGD group clinically and statistically ($p < .005$ and $p < .005$) (18).

The role of vitamin C, a known antioxidant, in collagen synthesis is believed to be useful in wound healing. As an antioxidant, vitamin C neutralizes ROS found in chronic ulcers. Vitamin C also

directly stimulates collagen synthesis. Sodium ascorbyl phosphate (SAP) is a stable derivative of vitamin C (19,20).

Vitamin E is a non-enzymatic, natural antioxidant and the most important lipid soluble in human tissue that is absorbed well by the skin. Several studies have shown that vitamin E, particularly α -tocopherol, gives good results in the wound-healing process. α -Tocopherol may serve as an antioxidant, reducing ischemic damage due to reperfusion disorders, and may stimulate growth and stabilize granulation tissue, as well as re-epithelialization (21,22).

In light of the aforementioned facts, the present study investigated the effect of topical gel hAMMSC-CM only (group 1) and a mixture of hAMMSC-CM + vitamin C (group 2) and hAMMSC-CM + vitamin E (group 3) on healing of CPUL.

Materials and methods

Study design and patients

This experimental analytical randomized controlled clinical trial was performed using parallel designs in 22 subjects in each of the three treatment groups. Consecutive sampling was performed, i.e. we enrolled any patient with CPUL who met the criteria for admission samples at the Dermatology Venereology outpatient clinic, Dr Soetomo Teaching Hospital. The subjects were leprosy patients with CPUL of >6 weeks, an ulcer depth of <0.5 cm, and a maximum injury area of 9 cm² who did not consume systemic corticosteroids in the last 2 weeks. The subjects also had no history of diabetes mellitus, hemophilia, blood clotting physiological disorders, antiplatelet use, and hypersensitivity to transparent film dressings or adhesive plasters. This clinical study was approved by the ethical committee board of Dr. Soetomo Teaching Hospital Surabaya and was randomized with computerized and consecutive sampling.

Treatment intervention

Surgical debridement was performed in all groups before treatment to remove callus and necrotic tissue and return all ulcers to the same healing phase, i.e. the coagulation and inflammatory phase. The drug was applied every 3 days until the ulcer closed or for a maximum of 8 weeks. An extensive and deep ulcer measurement and evaluation of side effects and complications of both drugs were conducted weekly. Off-loading was not performed in any subject. Subjects were recommended only to reduce standing and walking activities.

Laboratory testing

Spectrophotometric examination was conducted using a spectrophotometer by measuring the absorbance at 280 nm to determine the total protein content per mL fluid of stem cell metabolite products and obtain the total protein content in hAMMSC-CM to be used at 5.05 mg/mL. The hAMMSC-CM stability test was conducted in the laboratory testing unit of the Faculty of Pharmacy Universitas Airlangga for 4 weeks. The test was performed to determine the total protein content in hAMMSC-CM, which was [1.38 ± 0.1]% w/w on day one and [1.25 ± 0.02]% w/w on day 30. α -Tocopherol and SAP stability tests also were performed to determine the levels of α -tocopherol in groups 2 and 3. The α -Tocopherol content was measured weekly using high-performance liquid chromatography for 4 weeks. The α -tocopherol and SAP contents were [8.76% ± 0.1]% w/w on day 1 and [9.55% ± 0.1]% w/w on day 30. The total protein and α -tocopherol contents of metabolites of stem cell products were relatively stable until week 4, and thus the product mix metabolite in groups 2 and 3 could be regenerated every 4 weeks, which were applied to the ulcer once in every 3 days for a maximum of 8 weeks or 14 applications.

Statistical analysis

All enrolled patients were evaluated. The nonparametric Mann-Whitney *U* test was used to determine significant differences between samples before and after treatment within the same group and between two groups. *p* < .05 indicated statistical significance. All statistical analyses were performed using SPSS version 22.0 software (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

Results

The patients were divided almost equally between male and female sexes. The mean age of patients in all groups was 52.18 ± 1.33 years, mean ulcer duration was 1.41 ± 0.36 years, and mean ulcer size at baseline was 2.64 ± 0.50 cm² (Table 1). There were no dropouts in the study. All the patients who were included completed the study protocol.

The mean percentage of ulcer healing per week in groups 2 and 3 is shown in Figure 1. The healing percentage increased each week in all groups. At the end of the study, mean reduction in ulcer size and depth was 1.70 ± 1.05 cm² and 0.35 ± 0.14 cm², 2.01 ± 1.19 cm² and 0.25 ± 0.11 cm², and 2.84 ± 1.67 cm² and 0.27 ± 0.15 cm² in groups 1, 2, and 3, respectively (Table 2).

The clinical improvement in the ulcers at the end of the study is shown in Table 3. The numbers of patients in whom ulcers were improved (ulcer size was smaller at the end of the study compared with that at baseline), persisted (ulcer size remained

Table 1. Demographics of the patients and baseline characteristics.

Variable	Group 1 (n = 22)	Group 2 (n = 22)	Group 3 (n = 22)
Sex			
Male, n (%)	13 (59.1)	9 (40.9)	8 (36.4)
Female, n (%)	9 (40.9)	13 (59.1)	14 (63.6)
Age (years)			
21–50 years, n (%)	12 (54.5)	12 (54.5)	10 (45.4)
>50 years, n (%)	10 (45.5)	10 (45.5)	12 (54.6)
Occupation			
Requires long-standing/walking, n (%)	11 (50.0)	10 (45.5)	10 (45.5)
Does not require long-standing/walking, n (%)	11 (50.0)	12 (54.5)	12 (54.5)
Duration of ulcer (years)			
<1 year, n (%)	6 (27.3)	7 (31.8)	9 (40.9)
1–5 years, n (%)	15 (68.6)	15 (68.2)	13 (59.1)
>5 years, n (%)	1 (9.1)	0 (0)	0 (0)

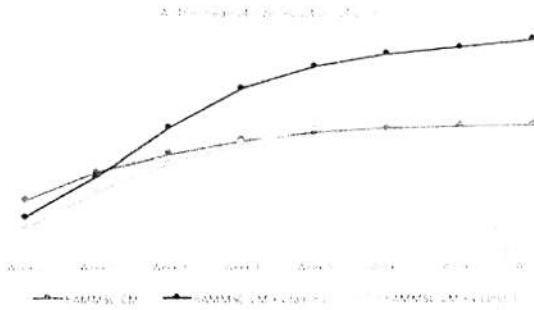


Figure 1. The mean percentage of size reduction in ulcers every week in the three groups hAMMSC-CM: human amniotic membrane-mesenchymal stem cell-conditioned medium.

Table 2. Percentage of reduction of ulcers.

	Group 1 (n = 22)	Group 2 C (n = 22)	Group 3 (n = 22)
The mean size of the ulcer ± SD			
Week I ± SD	0.69 ± 0.47	0.32 ± 0.47	0.47 ± 0.59
Week II ± SD	1.08 ± 0.59	0.79 ± 0.63	1.01 ± 0.69
Week III ± SD	1.31 ± 0.74	1.18 ± 0.75	1.67 ± 1.35
Week IV ± SD	1.48 ± 0.86	1.44 ± 0.92	2.19 ± 1.52
Week V ± SD	1.59 ± 0.94	1.65 ± 0.95	2.48 ± 1.59
Week VI ± SD	1.65 ± 0.97	1.75 ± 0.99	2.64 ± 1.64
Week VII ± SD	1.68 ± 1.03	1.88 ± 1.04	2.73 ± 1.67
Week VIII ± SD	1.70 ± 1.05	2.01 ± 1.19	2.84 ± 1.67
The mean depth of the ulcer ± SD			
Week I ± SD	0.15 ± 0.11	0.04 ± 0.05	0.05 ± 0.07
Week II ± SD	0.21 ± 0.14	0.09 ± 0.09	0.09 ± 0.08
Week III ± SD	0.26 ± 0.15	0.15 ± 0.11	0.14 ± 0.11
Week IV ± SD	0.30 ± 0.16	0.19 ± 0.10	0.18 ± 0.13
Week V ± SD	0.32 ± 0.15	0.21 ± 0.09	0.23 ± 0.14
Week VI ± SD	0.33 ± 0.15	0.24 ± 0.11	0.25 ± 0.14
Week VII ± SD	0.34 ± 0.15	0.24 ± 0.11	0.26 ± 0.14
Week VIII ± SD	0.35 ± 0.14	0.25 ± 0.11	0.27 ± 0.15

Table 3. Clinical improvement of the ulcers at the end of the study.

Improvement of ulcers at the end of the study	Group 1 (n = 22)	Group 2 (n = 22)	Group 3 (n = 22)
Improved, n (%)	21 (95.5)	22 (100)	22 (100)
Persisted, n (%)	1 (4.5)	0 (0)	0 (0)
Worsened, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

the same at the end of the study), and worsened (ulcer size was larger at the end of the study) are shown in Figure 2. In this study, the percentage of improved ulcers was higher in groups 2 and 3 (22%) than in group 1 (21%). Clinical picture before and after application of gel in each group is shown in Figures 3, 4, and 5, respectively.

No adverse events were encountered in any group. During clinical examination, no patient had any clinical signs of allergic contact dermatitis or infection (no erythema of the skin around the ulcer, no swelling, no warmth on palpation, no odor, and no exudation).

The difference in the ulcer size before and after treatment in the three groups was compared using the Mann-Whitney U test. The results showed a significant difference among the three groups in ulcer size ($p < .005$) and depth ($p < .005$), with the best result occurring in group 3.

Discussion

Table 1 shows that the work risk and duration of ulcer formation were not different among the groups. At the end of the study, good clinical outcomes were obtained in all groups: 21 ulcers (98.5%) improved in group 1, 22 (100%) improved in group 3 with no worsening ulcers, and 22 (100%) improved in group 2. There was a trend for decreasing ulcer width and depth in groups 2 and 3 per week (Table 2). In the comparative test of the ulcer size among groups 1, 2, and 3, the mean width was significantly different ($p = .000$; $p = .000$; $p = .000$, respectively), but there was no

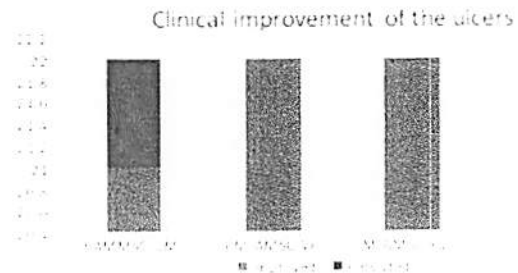


Figure 2. Clinical improvement of the ulcers at the end of the study.

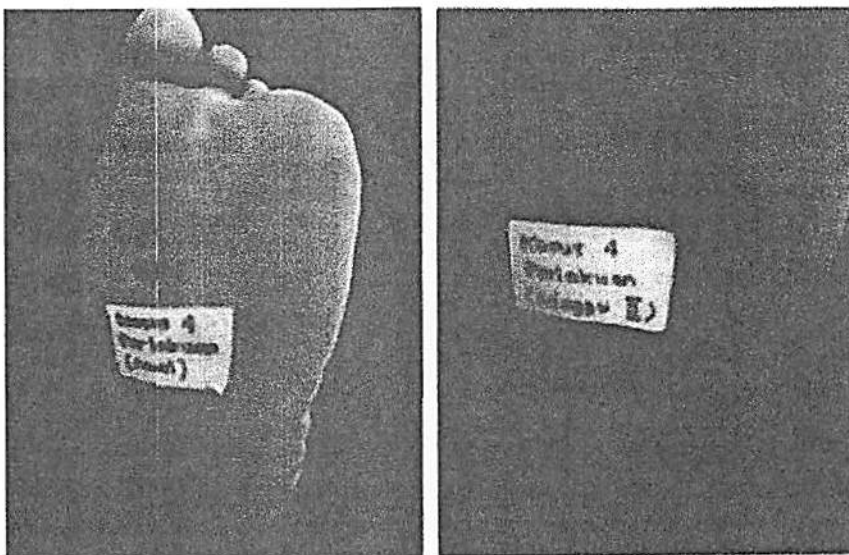


Figure 3. (A) Chronic ulcer before application in group 1. (B) Recovered ulcer at week 2 after gel application.

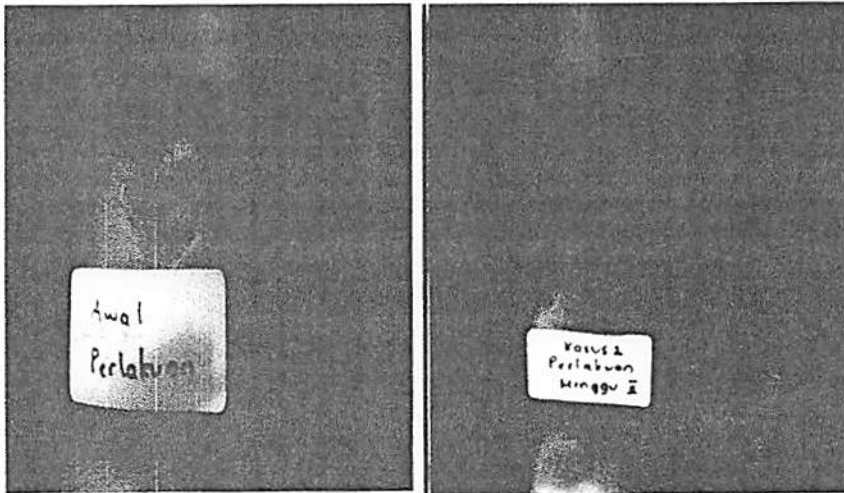


Figure 4. (A) Chronic ulcer before gel application in group 3. (B) Recovered ulcer at week 2 after gel application.

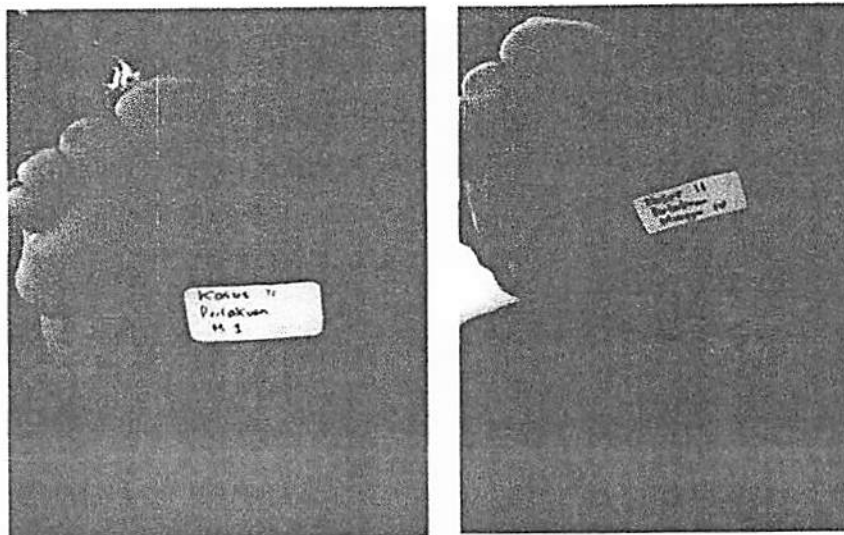


Figure 5. (A) Chronic ulcer before gel application in group 2. (B) Recovered ulcer at week 4 after gel application.

significant difference in mean depth from the beginning to the end of treatment. The results indicated that the mean weekly improvement in ulcer width up to the end of treatment was better in group 3 than in groups 1 and 2, whereas the mean depth improvement did not differ among the groups.

In dermatology, vitamin C is known as an antioxidant with a significant role in collagen synthesis. These functions are believed to be useful in wound healing. The antioxidant function of vitamin C is beneficial in neutralizing ROS present in chronic ulcers. Vitamin C also stimulates the collagen synthesis directly. SAP is a stable derivative of vitamin C. Although this derivative has the same function as that of vitamin C, it has better stability. The use of vitamin C and metabolite products simultaneously is expected to accelerate wound healing, with faster healing times, thereby resulting in less cost and increased quality of life of patients (19,20, 23–26).

To date, reports have discussed the effect of the mixture of hAMMSC-CM + vitamin E on the wound-healing process, but some studies have been conducted to determine the effect of growth factors and vitamin E separately on wound healing; all studies have shown satisfactory results (21,22).

A randomized controlled trial was conducted by Uchi et al. (9) to evaluate the efficacy of a topical fibroblast growth factor (bFGF) in 150 patients with chronic nonischemic diabetic ulcers. The subjects were divided into placebo ($n=51$), 0.001% bFGF ($n=49$), and 0.01% bFGF ($n=49$) groups and received treatment for a maximum of 8 weeks. At the end of the study, ulcers with a wound-healing area of $>75\%$ were found in 57.5%, 72.3%, and 82.2% of the patients, respectively, with a significant difference found between the 0.01% bFGF and placebo groups ($p=.025$) (9).

The results were in accordance with those of our study. The anti-inflammatory cytokines contained in the agents administered to groups 1–3 are thought to relieve tissue stress due to persistent pressure on the ulcers caused by work that requires much standing or walking. The levels of pro-inflammatory cytokines and increasing protease in chronic wounds cause the wound to remain in a prolonged inflammatory phase. A high protease enzyme will decrease the local growth factor production, and therefore, the wound will not enter the wound-healing proliferation phase (27,28).

A study analyzing the product of mesenchymal stem cell metabolites showed that many mediator substances, such as

growth factors, cytokines, and chemokines, that are essential for tissue repair can be found in the tissue medium of mesenchymal stem cell metabolites, particularly vascular endothelial growth factor, platelet-derived growth factor, basic fibroblast growth factor, epidermal growth factor, keratinocyte growth factor, and transforming growth factor- β (TGF- β). Applications of a topical metabolite stem cell product can overcome a prolonged inflammatory phase in chronic wounds because it contains anti-inflammatory cytokines and growth factors; thus, the inflammatory phase can be resolved, and the wound can enter the healing proliferation and remodeling phase (12,13).

Fiori et al. (10) compared the rate of ulcer healing in the fingers of patients with systemic sclerosis. One group received standard ulcer treatment plus vitamin E gel application, and one group only received standard care procedures. The healing time and resolution of pain were faster in the group receiving vitamin E gel compared with those in the control group ($p < .0001$) (10). Chronic ulcers showed increasing levels of ROS or free radicals, which could delay the wound-healing process and inhibit formation of granulation tissue and epithelialization. Vitamin E is an antioxidant that can reduce damage caused by free radicals released by neutrophils in the inflammatory phase of the wound-healing process (3,5). In addition to its antioxidant activity, vitamin E has anti-inflammatory and anti-aggregating properties and can cause vasodilation of small blood vessels. The level of vitamin E (α -tocopherol) in hAMMSC-CM + vitamin E gel is thought to reduce free radicals, reduce ischemic damage from reperfusion disorders, and stimulate growth and stabilization of granulation and re-epithelialization tissue that assisted in the ulcer-healing process in this study (22).

Table 2 shows the comparison of ulcer size before and after overall treatment in each group. There was a significant decrease in the ulcer width and depth: $1.70 \pm 1.05 \text{ cm}^2$, $p = .000$ in group 1, $2.84 \pm 1.67 \text{ cm}^2$, $p = .000$ in group 3, and $2.01 \pm 1.19 \text{ cm}^2$, $p = .000$ in group 2.

Reduced volume or depth of a wound was demonstrated by the proliferation of granulation tissue. Wound contraction was caused by granulation of the fibroblast/myofibroblast at the base of the wound. The degree of contraction and re-epithelialization in the chronic wound-healing process was highly dependent on the anatomic location and was not associated with the cause. Ligament retainers in loose tissue, such as the back, abdomen, or face, were more loose and rarer; thus, wound contraction had a major role in the healing process. Tightly adherent tissue, such as that in the palms, soles of the feet, or anterior tibial region, has a dense and firm skin ligament, and therefore the process of wound contraction was less important. The wound-healing process in these areas was more dependent on epithelialization. An ulcer on the plantar pedis has a larger surface epithelial area to be closed by re-epithelialization compared with the depth of the ulcer through formation of granulation tissue. This was because the wound on the sole of the foot did not contract, and thus there was only a small amount of granulation tissue underlying the ulcer surface. This caused no significant difference in the mean ulcer depth before and after treatment among all groups (24,25).

The present study has a few limitations. We did not conduct off-loading, i.e. reducing or removing the load on the legs. Off-loading can be conducted via bed rest or via the use of crutches, wheelchairs, walkers, and special footwear (16). The pressure on the plantar pedis in people with neuropathy should be distributed evenly to avoid high pressure in certain areas that may interfere with or inhibit healing of plantar ulcers. Subjects were recommended only to reduce standing or walking activities, but this was very difficult to implement because most subjects had to work to fulfill their daily needs. Another limitation was that there was no subject grouping based on the location of the ulcer and

anatomical structure. Because ulcer healing is influenced by the amount of pressure obtained during standing and walking, the location of the ulcer and its anatomical structure has an important role. Ulcers located on the protrusion of the bone (the soles of the front legs, the soles of the hind legs) experience higher pressure than those on the middle palm when standing or walking.

Conclusions

The hAMMSC-CM + vitamin E gel clinically and statistically decreased the mean ulcer width more significantly than hAMMSC-CM only and hAMMSC-CM + vitamin C, but there was no difference in the mean ulcer depth in all groups. All gels have been proven to decrease the size of chronic plantar of leprosy ulcers by increasing the mean healing of the ulcer width and depth every week until week 8, but the process was larger and faster in group 3. There were no complications or side-effects due to gels in any subject. Further experimental analytic research in randomized controlled clinical trials should be conducted to compare effects of the gel on healing of CPUL with off-loading in the form of a foot board specifically designed to help reduce stress and repetitive mechanical stress, which can affect the healing process. In addition, further studies should apply additional criteria in selecting a good match between the groups (matching) according to the location of the ulcer and anatomical structure to reduce bias.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

Funding

This work was supported by Minister of Education and Technology Research, Indonesia [597/UN3.14/LT/2017].

ORCID

C. R. S Prakoeswa  <http://orcid.org/0000-0001-5325-2963>

References

1. Srinivasan H. Management of ulcers in neurologically impaired feet in leprosy affected persons. *Surgical reconstruction and rehabilitation in leprosy and other neuropathies*. 2004;15:193–226.
2. Dzikrina AM, Pumami SW. Modeling leprosy prevalence rate and the factors that influence in East Java with the approach of geographically weighted regression (GWR). *J Sci Arts*. 2013;2:2337–3520.
3. Robson M. The role of growth factors in the healing of chronic wounds. *Wound Repair Regen*. 1997;5:12–17.
4. Guo S, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res*. 2010;89:219–229.
5. Suryanarayan S, Budamakuntia L, Khadri SIS, et al. Efficacy of autologous platelet-rich plasma in the treatment of chronic nonhealing leg ulcers. *Plast Aesthet Res*. 2014;1:65–69.
6. Skardal A, Mack D, Kapetanovic E, et al. Bioprinted amniotic fluid-derived stem cells large Accelerate healing of skin wounds. *Stem Cells. Transl Med*. 2012;1:792–802.
7. Hendrijantini N, Kresnoadi U, Salim S, et al. Study biocompatibility and osteogenic differentiation potential of human

Pengaruh Pemberian Topikal Campuran Produk Metabolit *Amniotic Membrane Stem Cell* (AMSC) pada Penyembuhan Ulkus Plantar Kronis Morbus Hansen

(The Effect of Topical Mixture Amniotic Membrane Stem Cell (AMSC) on Plantar Ulcer's Healing in Leprosy)

Asmahani Thohiroh, Cita Rosita SP, Sawitri

Departemen/Staf Medik Fungsional Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Soetomo Surabaya

ABSTRAK

Latar Belakang: Ulkus plantar kronis pada Morbus Hansen (MH) masih menjadi permasalahan dalam hal medis maupun sosial pasien. Produk metabolit *amniotic membrane stem cell* (AMSC) mengandung *growth factor* dan sitokin yang dibutuhkan pada penyembuhan ulkus kronis. Vitamin C sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan sintesis kolagen bermanfaat pada penyembuhan luka. Campuran keduanya diharapkan dapat membantu penyembuhan ulkus kronis MH. **Tujuan:** Untuk membuktikan pengaruh pemberian topikal campuran produk metabolit AMSC dengan vitamin C pada persentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH yang lebih cepat dibandingkan perawatan standar dengan *framycetin gauze dressing* (FGD). **Metode:** Penelitian eksperimental analitik dengan menggunakan metode uji klinis terkontrol, pemilihan pasangan serasi, dan desain paralel yang membandingkan terapi topikal gel campuran produk metabolit AMSC dengan vitamin C (PM-AMSC-VC) (perlakuan) dan FGD (kontrol) pada pasien ulkus plantar kronis MH. **Hasil:** Penyembuhan ulkus setiap minggu dan di akhir studi didapatkan rerata persentase lebih besar pada kelompok perlakuan yang mendapatkan gel campuran produk metabolit AMSC dengan vitamin C dibandingkan dengan kelompok kontrol yang mendapatkan FGD. Didapatkan perbedaan bermakna sebelum dan sesudah pengobatan pada selisih luas dan dalam ulkus antara kelompok campuran produk metabolit AMSC dengan vitamin C dan FGD, yaitu pada selisih luas ulkus didapatkan hasil $p=0,012$ dan selisih dalam ulkus $p=0,015$. **Simpulan:** Pemberian topikal campuran produk metabolit AMSC dengan vitamin C memberikan hasil yang baik pada penyembuhan ulkus plantar kronis MH.

Kata kunci: produk metabolit *amniotic membrane stem cell*, ulkus kronis, Morbus Hansen.

ABSTRACT

Background: Chronic plantar ulcer in Leprosy is a still a problem in term of patient's medical and social aspect. Amniotic membrane stem cell (AMSC) conditioned medium provide growth factors and sitokin for the chronic ulcer's healing. Vitamin C as antioxidant, anti inflammatory, and collagen synthesis can be useful for wound healing. A mixture of both can aid the ulcer healing. **Objective:** To prove the effect of topical mixture of AMSC conditioned medium with vitamin C on the percentage of the chronic plantar ulcer of Leprosy's healing faster than standard treatment with framycetin gauze dressing (FGD). **Methods:** This study was an experimental analytic study, controlled clinical trials, matching, and a parallel design. Comparing topical gel mixture of AMSC conditioned medium with vitamin C (treatment) and framycetin gauze dressing FGD (control) in Leprosy patients with chronic plantar ulcer. **Results:** The average of percentage for the healing ulcer every week and at the end of the study found that in the treatment group who received the gel mixture AMSC products with vitamin C is greater than in control group which received FGD. There is significant differences before and after treatment on the width and depth of the ulcers difference between the treatment and control group. The p for difference for ulcers's width is 0.012 and p for the difference in the depth of the ulcer is 0.015. **Conclusion:** A mixture of AMSC conditioned medium with vitamin C gives good results in the healing of chronic plantar ulcer in Leprosy

Key words: amniotic membrane stem cell conditioned medium, plantar ulcer, leprosy.

Alamat korespondensi: Cita Rosita SP, Departemen Staf Medik Fungsional Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Soetomo, Jl. Mayjend Prof. Dr. Moestopo No.6-8 Surabaya 60131, Indonesia. Telepon: (031) 5501609, email: citarositasp@yahoo.com

PENDAHULUAN

Ulkus plantar kronis pada Morbus Hansen (MH) termasuk kecacatan tingkat 2, merupakan penyebab kecacatan tersering pada pasien MH. Prevalensi kecacatan tingkat 2 pada pasien MH pada wilayah Asia Tenggara meningkat dari tahun 2010 hingga 2011 sebesar 2,5%. Walaupun angka kecacatan tingkat 2 di Indonesia turun dari 8,71 per 1.000.000 penduduk pada tahun 2012, menjadi 6,82 per 1.000.000 penduduk pada tahun 2013, namun Jawa Timur masih menjadi penyumbang terbesar angka kecacatan yang tinggi dengan proporsi cacat tingkat II sebesar 13% di antara seluruh kasus baru yang ditemukan.^{1,2}

Ulkus kronis merupakan permasalahan yang serius dalam hal medis maupun sosial pasien. Pasien mengalami penurunan kualitas hidup, sehingga manajemen penyembuhan luka terus diteliti untuk mengatasi ulkus kronis.^{3,4} Pada ulkus kronis terjadi penurunan *growth factors* seperti *platelet derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor* (TGF) - β yang dibutuhkan pada proses penyembuhan, selain itu terdapat kadar yang tinggi dari *reactive oxygen species* (ROS), yang dapat merusak sel dan degradasi kolagen.⁵

Dewasa ini beberapa penelitian terus dikembangkan dalam penyembuhan luka kronis, salah satunya menggunakan *stem cell*. Salah satu sumber *stem cell* adalah *Mesenchymal stem cell* (MSC). MSC adalah sel progenitor multipoten dengan kemampuan untuk memperbaharui diri sendiri dan dapat berdiferensiasi menjadi jaringan konektif, tulang, kartilago, adiposit, otot, sel endotelial, hepatosit, sel neuron, dan sel epitel. MSC juga mempunyai efek imunomodulator dan efek parakrin.^{6,7}

Membran amnion dari plasenta manusia merupakan salah satu sumber dari MSC multipoten yang sering digunakan dalam terapi regeneratif dikenal dengan *amniotic membrane stem cell* (AMSC) yang mempunyai kemampuan berdiferensiasi lebih tinggi daripada yang didapatkan dari *stem cell* dewasa. Dewasa ini mulai dikembangkan terapi menggunakan produk metabolit dari *stem cell* tanpa adanya *stem cell* tersebut. Penggunaan produk metabolit ini lebih mudah dan aman karena aseluler. Produk metabolit AMSC didapatkan saat kultur dari AMSC, dimana pada produk metabolit ini mengandung beberapa sitokin dan *growth factor* yang diperlukan pada penyembuhan luka.^{6,7}

Vitamin C kegunaannya di bidang dermatologi dikenal sebagai antioksidan, dan sintesis kolagen. Fungsi-fungsi tersebut dipercaya juga dapat bermanfaat pada penyembuhan luka. Fungsi vitamin

C sebagai antioksidan berguna dalam menetralkan ROS yang terdapat pada ulkus kronis. Vitamin C juga secara langsung menstimulasi sintesis kolagen.⁸ Kekurangan dari vitamin C adalah ketidakstabilannya terutama dalam bentuk larutan, paparan terhadap cahaya, pada kondisi aerob, dan mudah teroksidasi menjadi bentuk *Dehydro Ascorbic Acid* (DHAA) yang warnanya kekuningan. Salah satu derivat vitamin C yang sifatnya stabil yaitu *sodium ascorbyl phosphate* (SAP). Derivat ini mempunyai fungsi yang sama seperti vitamin C namun mempunyai stabilitas yang lebih baik.⁹ Penggunaan vitamin C dan produk metabolit secara bersamaan diharapkan dapat mempercepat penyembuhan luka, dengan waktu penyembuhan yang lebih cepat diharapkan biaya yang dikeluarkan lebih sedikit daripada pengobatan standar yang biasa digunakan dan kualitas hidup pasien meningkat.

Tujuan umum penelitian ini adalah membuktikan pengaruh pemberian topikal campuran produk metabolit AMSC dengan vitamin C (PM-AMSC-VC) pada persentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH yang lebih cepat dibandingkan perawatan standar dengan *framycetin gauze dressing* (FGD). Tujuan khususnya yaitu membandingkan persentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH setiap minggu dan di akhir studi, antara kelompok ulkus plantar kronis MH yang mendapat campuran PM-AMSC-VC dan kelompok kontrol yang mendapat perawatan standar dengan FGD dan mengevaluasi efek samping yang mungkin terjadi akibat pemberian topikal campuran PM-AMSC-VC dan FGD.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental analitik dengan menggunakan metode uji klinis terkontrol, pemilihan pasangan serasi, dan desain paralel yang membandingkan terapi topikal gel campuran PM-AMSC-VC (perlakuan) dan FGD (kontrol) pada pasien ulkus plantar kronis MH. Berdasarkan rumus perhitungan sampel diperoleh sampel penelitian sejumlah 11 ulkus pada masing-masing kelompok. Populasi penelitian adalah semua pasien MH dengan ulkus plantar kronis (baik ulkus tunggal maupun ulkus multipel), yang datang berobat di URJ Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Divisi MH RSUD. Dr. Soetomo Surabaya. Sampel penelitian adalah semua ulkus plantar pedis (baik ulkus tunggal maupun multipel) pada pasien MH yang memenuhi kriteria penerimaan sampel, yaitu: (pasien MH dengan) ulkus plantar kronis ≥ 3 minggu, luas ulkus maksimal 9 cm², kedalaman ulkus $\leq 0,5$ cm, keadaan umum penderita baik, dan bersedia untuk mengikuti penelitian dan menandatangani *informed consent*.

Kriteria penolakan sampel adalah penggunaan kortikosteroid sistemik dalam 2 minggu terakhir, pasien dengan riwayat hemofili/gangguan faal pembekuan darah/penggunaan *antiplatelet*, riwayat hipersensitifitas terhadap *framycetin sulfate*, antibiotik golongan aminoglikosida, dan terhadap sulfat, riwayat hipersensitifitas terhadap *adhesive plester*, serta pasien dengan Diabetes Melitus. Alokasi subyek penelitian ke dalam kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dilakukan dengan menggunakan teknik pemilihan pasangan serasi dengan memakai dua variabel yaitu jenis pekerjaan (subjek penelitian dengan jenis pekerjaan yang lama berdiri/berjalan yaitu pekerjaan dengan risiko rendah merupakan pekerjaan yang membutuhkan berdiri/berjalan tidak lebih dari satu jam secara terus menerus dan tidak lebih dari 4 jam secara keseluruhan, dan subjek penelitian dengan jenis pekerjaan yang tidak lama berdiri/berjalan yaitu pekerjaan yang membutuhkan berdiri/berjalan secara terus menerus atau lebih dari 4 jam secara keseluruhan, atau lebih dari satu jam secara terus menerus dan lebih dari 4 jam secara keseluruhan), dan ukuran ulkus (luas ulkus <1 cm², luas ulkus 1-4 cm², dan luas ulkus >4 cm²)

HASIL

Berdasarkan data 11 ulkus pada kelompok FGD dan 11 ulkus pada kelompok campuran PM-AMSC-

VC didapatkan perempuan merupakan jenis kelamin terbanyak pada kedua kelompok yaitu pada kelompok kontrol sebanyak 7 orang (63,6%) dan kelompok perlakuan 9 orang (81,8%). Usia subjek penelitian terbanyak adalah pada usia 46-55 tahun sebanyak 8 orang (36,4%), usia 56-65 tahun sebanyak 7 orang (31,8%), 36- 45 tahun sebanyak 4 orang (18,2%), > 65 tahun sebanyak 2 orang (9,1%), dan 26-35 tahun sebanyak 1 orang (4,5%) dengan rerata usia pada kedua kelompok penelitian sebesar 52,6 ± 10,6. Tidak ada subjek penelitian yang berusia dibawah 35 tahun. Hasil uji statistik menggunakan uji *Fisher* didapatkan p=1,000 (>0,05) yaitu tidak ada hubungan antara usia dengan pemberian FGD maupun campuran PM-AMSC-VC.

Sebagian besar subjek penelitian mempunyai pekerjaan yang membutuhkan berdiri atau berjalan lama sebesar 54,5% dan yang tidak membutuhkan berdiri atau berjalan lama sebesar 45,5%. Lama ulkus kronis paling banyak berkisar 1-5 tahun yaitu pada 14 ulkus (63,6%), selanjutnya <1 tahun pada 7 ulkus (31,8%), dan >5 tahun pada 1 ulkus dengan rerata lama ulkus kronis pada kedua kelompok penelitian sebesar 1,6 ± 2,1. Semua ulkus mempunyai luas 1-4 cm² dengan rerata ukuran luas awal ulkus pada kedua kelompok penelitian sebesar 2,1 ± 1,1 cm².

Tabel 1. Lokasi ulkus kronis MH pada plantar pedis subjek penelitian

Distribusi ulkus kronis pada plantar pedis	FGD (n=11)	PM-AMSC-VC (n=11)	Jumlah (n=22)
Telapak kaki depan, n (%)			
- Caput metatarsal I, n (%)	5 (45,5)	4 (36,4)	9 (40,9)
- Caput metatarsal II, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
- Caput metatarsal II-III, n (%)	0 (0)	1 (9,1)	1 (4,5)
- Caput metatarsal III, n (%)	2 (18,2)	3 (27,3)	5 (22,7)
- Caput metatarsal III-IV, n (%)	1 (9,1)	2 (18,2)	3 (13,6)
- Caput metatarsal IV, n (%)	0 (0)	1 (9,1)	1 (4,5)
- Caput metatarsal V, n (%)	1 (9,1)	0 (0)	1 (4,5)
- Basis metatarsal V, n (%)	2 (18,2)	0 (0)	2 (9,1)

Keterangan: MH = Morbus Hansen; FGD = *framycetin gauze dressing*; PM-AMSC-VC = produk metabolit AMSC dengan vitamin C.

Pada penelitian ini semua ulkus subjek penelitian terletak pada area telapak kaki depan yaitu terbanyak pada caput metatarsal I yaitu 40,9 %, selanjutnya area caput metatarsal III (22,7%), caput metatarsal III-IV (13,6%), basis metatarsal V (9,1%), diikuti oleh caput metatarsal II-III, IV, dan V sebanyak 4,5% (tabel 1).

Kemajuan ulkus secara klinis pada akhir penelitian pada kelompok FGD terdapat 2 ulkus sembuh (18,2%), 4 ulkus (36,4%) membaik, 4 ulkus

(36,4%) tetap, dan 1 ulkus (9,1%) memburuk, sedangkan pada kelompok campuran PM-AMSC-VC terdapat 10 ulkus (90,9 %) sembuh dan 1 ulkus (9,1%) membaik. Hasil uji *Fisher* didapatkan hasil p=0,007 yaitu terdapat hubungan antara kemajuan ulkus secara klinis dengan pemberian FGD maupun campuran PM-AMSC-VC.

Pada akhir penelitian yaitu pada minggu ke-8 didapatkan rerata persentase berkurangnya luas ulkus

sebesar $44,7 \pm 44,8\%$ pada kelompok FGD dan $95,6 \pm 15,1\%$ pada kelompok campuran PM-AMSC-VC. Rerata persentase berkurangnya dalam ulkus pada minggu ke 8 didapatkan sebesar $36,1 \pm 39,8\%$ pada kelompok FGD dan $93,9 \pm 20,1\%$ pada kelompok campuran PM-AMSC-VC, sehingga dapat disimpulkan rerata berkurangnya persentase luas ulkus dan dalam ulkus pada kelompok campuran PM-AMSC-VC lebih besar dibandingkan dengan kelompok FGD.

Uji statistik komparasi dilakukan pada ukuran rerata ulkus setiap minggu pada masing-masing kelompok, antar kelompok, rerata ukuran ulkus sebelum dan sesudah pengobatan pada masing-masing kelompok, dan rerata ukuran ulkus sebelum dan sesudah pengobatan pada masing-masing kelompok penelitian, setelah terlebih dahulu dilakukan uji normalitas untuk mengetahui distribusi luas ulkus normal atau tidak.

Rerata luas ulkus tiap minggu pada kelompok FGD mengalami penurunan kecuali antara minggu ke-5 dengan minggu ke-6 ($1,25 \pm 1,25 \text{ cm}^2$) dan antara

minggu ke-7 dengan minggu ke-8 ($1,27 \pm 1,32 \text{ cm}^2$) mengalami kenaikan, hasil p berbeda bermakna hanya didapatkan pada antara minggu awal dengan minggu ke-1 ($p=0,025$) dan antara minggu ke-1 dengan minggu ke-2 ($0,039$). Sedangkan pada kelompok PM-AMSC-VC terjadi penurunan rerata luas ulkus setiap minggu sampai minggu ke-8 dengan p yang bermakna pada antar minggu awal dengan minggu ke-1, antara minggu ke-1 dengan minggu ke-2, antara minggu ke-2 dengan minggu ke-3, antara minggu ke-3 dengan minggu ke-4.

Rerata kedalaman ulkus pada kelompok FGD mengalami penurunan setiap minggunya dari awal sampai akhir pengobatan, dengan p yang tidak berbeda bermakna pada setiap minggunya. Rerata dalam ulkus pada kelompok PM-AMSC-VC mengalami penurunan sejak minggu pertama hingga akhir pengobatan dengan rerata kedalaman berbeda bermakna hanya terjadi antara minggu ke-3 dan minggu ke-4 ($0,16 \pm 0,08 \text{ cm}$ dan $0,08 \pm 0,08 \text{ cm}$, $p=0,000$) dan antara minggu ke-4 dan minggu ke-5 ($0,08 \pm 0,08 \text{ cm}$ dan $0,05 \pm 0,08 \text{ cm}$, $p=0,015$).

Tabel 2. Persentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH pada subjek penelitian

Persentase penyembuhan ulkus plantar kronis MH	FGD (n=11)	PM-AMSC-VC (n=11)
Rerata persentase berkurangnya luas ulkus (%)		
- Minggu 1 ± SD	25,9 ± 25,2	30,3 ± 17,7
- Minggu 2 ± SD	37,1 ± 32,5	59,6 ± 23,5
- Minggu 3 ± SD	38,6 ± 38,4	77,7 ± 29,7
- Minggu 4 ± SD	40,9 ± 39,9	87,9 ± 22,3
- Minggu 5 ± SD	42,8 ± 40,3	92,9 ± 15,3
- Minggu 6 ± SD	41,3 ± 43,6	95,6 ± 15,1
- Minggu 7 ± SD	44,7 ± 44,8	95,6 ± 15,1
- Minggu 8 ± SD	44,7 ± 44,8	95,6 ± 15,1
Rerata persentase berkurangnya dalam ulkus (%)		
- Minggu 1 ± SD	5,3 ± 11,9	24,2 ± 17,8
- Minggu 2 ± SD	12,9 ± 23,9	53,0 ± 25,6
- Minggu 3 ± SD	20,5 ± 40,2	71,9 ± 29,9
- Minggu 4 ± SD	22,3 ± 39,5	82,6 ± 27
- Minggu 5 ± SD	25,4 ± 39,6	87,8 ± 22,5
- Minggu 6 ± SD	29,4 ± 38,6	93,9 ± 20,1
- Minggu 7 ± SD	33,02 ± 38,5	93,9 ± 20,1
- Minggu 8 ± SD	35,1 ± 39,8	93,9 ± 20,1

Keterangan: MH = Morbus Hansen; FGD = *framycetin gauze dressing*; PM-AMSC-VC = produk metabolit AMSC dengan vitamin C; SD = Standar deviasi.

Tabel 3. Uji komparasi ukuran ulkus plantar kronis MH setiap minggu pada masing-masing kelompok penelitian di Divisi Morbus Hansen Unit Rawat Jalan Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya

	FGD (n = 11)	p = 0,05	PM-AMSC-VC (n = 11)	p = 0,05
Rerata luas ulkus				
- Awal	1,91 ± 1,20		2,18 ± 1,07	
- Minggu 1 ± SD	1,50 ± 1,25	0,025*	1,56 ± 0,89	0,000*
- Minggu 2 ± SD	1,30 ± 1,21	0,039*	1,00 ± 0,91	0,008*
- Minggu 3 ± SD	1,30 ± 1,24	1,000	0,67 ± 0,90	0,004*
- Minggu 4 ± SD	1,25 ± 1,26	0,157	0,37 ± 0,67	0,030*
- Minggu 5 ± SD	1,18 ± 1,20	0,180	0,22 ± 0,46	0,066
- Minggu 6 ± SD	1,25 ± 1,25 1,23 ±	0,655	0,13 ± 0,45	0,180
- Minggu 7 ± SD	1,27	0,756	0,13 ± 0,45	1,000
- Minggu 8 ± SD	1,27 ± 1,32	0,341	0,09 ± 0,30	0,317
Rerata dalam ulkus				
- Awal	0,40 ± 0,10		0,36 ± 0,22	
- Minggu 1 ± SD	0,38 ± 0,16	0,138	0,36 ± 0,22	0,157
- Minggu 2 ± SD	0,35 ± 0,16	0,083	0,25 ± 0,10	0,206
- Minggu 3 ± SD	0,33 ± 0,17	0,180	0,16 ± 0,08	0,000*
- Minggu 4 ± SD	0,31 ± 0,14	0,317	0,08 ± 0,08	0,015*
- Minggu 5 ± SD	0,30 ± 0,15	0,157	0,05 ± 0,08	0,083
- Minggu 6 ± SD	0,29 ± 0,14	0,341	0,03 ± 0,06	0,157
- Minggu 7 ± SD	0,27 ± 0,12	0,167	0,01 ± 0,06	0,157
- Minggu 8 ± SD	0,26 ± 0,10	0,341	0,01 ± 0,06	1,000

*berbeda bermakna (p<0,05)

Keterangan: MH = Morbus Hansen; FGD = *framycetin gauze dressing*; PM-AMSC-VC = produk metabolit AMSC dengan vitamin C; SD = Standar deviasi.

Uji statistik rerata luas antara kelompok FGD dan PM-AMSC-VC pada minggu ke-5 sampai akhir pengobatan didapatkan perbedaan bermakna (p=0,04, p=0,007, p=0,002, p=0,002, p=0,001), sedangkan pada rerata luas ulkus antar kedua kelompok setiap minggu dari awal sampai minggu ke-3 tidak didapatkan perbedaan bermakna. Uji statistik antara kedua kelompok pada dalam ulkus didapatkan perbedaan bermakna mulai minggu ke-3 sampai minggu ke-8 (p=0,023, p=0,005, p=0,003, p=0,002, p=0,001, p=0,001), sedangkan pada awal sampai minggu ke-2 tidak didapatkan perbedaan bermakna.

Selisih dalam ulkus pada kelompok FGD, selisih luas ulkus pada kelompok campuran PM-AMSC-VC,

dan selisih dalam ulkus kelompok campuran PM-AMSC-VC terdapat perbedaan bermakna setelah dilakukan uji statistik yaitu dengan p masing-masing 0,024; 0,003; dan 0,003, sedangkan selisih luas ulkus pada kelompok FGD didapatkan tidak ada perbedaan bermakna sebelum dan sesudah pengobatan (p=0,128).

Dilakukan uji komparasi antara kedua kelompok penelitian yaitu kelompok FGD dan PM-AMSC-VC, didapatkan hasil pada selisih ulkus p=0,012 dan selisih dalam ulkus p=0,015, sehingga disimpulkan terdapat perbedaan bermakna pada selisih luas dan dalam ulkus antara kelompok FGD dan PM-AMSC-VC.

Tabel 4. Uji komparasi ukuran ulkus plantar kronis MH setiap minggu antar kelompok penelitian di Divisi Morbus Hansen Unit Rawat Jalan Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya

	FGD (n = 11)	PM-AMSC-VC (n = 11)	p = 0,05
Rerata luas ulkus			
- Awal	1,91 ± 1,20	2,18 ± 1,07	1,000
- Minggu 1 ± SD	1,50 ± 1,25	1,56 ± 0,89	0,527
- Minggu 2 ± SD	1,30 ± 1,21	1,00 ± 0,91	0,448
- Minggu 3 ± SD	1,30 ± 1,24	0,67 ± 0,90	0,178
- Minggu 4 ± SD	1,25 ± 1,26	0,37 ± 0,67	0,040*
- Minggu 5 ± SD	1,18 ± 1,20	0,22 ± 0,46	0,007*
- Minggu 6 ± SD	1,25 ± 1,25 1,23	0,13 ± 0,45	0,002*
- Minggu 7 ± SD	± 1,27	0,13 ± 0,45	0,002*
- Minggu 8 ± SD	1,27 ± 1,32	0,91 ± 0,30	0,001*
Rerata dalam ulkus			
- Awal	0,40 ± 0,10	0,36 ± 0,22	0,106
- Minggu 1 ± SD	0,38 ± 0,16	0,36 ± 0,22	0,287
- Minggu 2 ± SD	0,35 ± 0,16	0,25 ± 0,10	0,149
- Minggu 3 ± SD	0,33 ± 0,17	0,16 ± 0,08	0,023*
- Minggu 4 ± SD	0,31 ± 0,14	0,08 ± 0,08	0,005*
- Minggu 5 ± SD	0,30 ± 0,15	0,05 ± 0,08	0,003*
- Minggu 6 ± SD	0,29 ± 0,14	0,03 ± 0,06	0,002*
- Minggu 7 ± SD	0,27 ± 0,12	0,01 ± 0,06	0,001*
- Minggu 8 ± SD	0,26 ± 0,10	0,01 ± 0,06	0,001*

*berbeda bermakna (p<0,05)

Keterangan: MH = Morbus Hansen; FGD = *framycetin gauze dressing*; PM-AMSC-VC = produk metabolit AMSC dengan vitamin C; SD = Standar deviasi.**Tabel 5.** Uji komparasi rerata ukuran ulkus sebelum dan sesudah pengobatan pada masing-masing kelompok penelitian

Ukuran ulkus	FGD (n=11) Rerata ± SD	Nilai p = 0,05	PM-AMSC-VC (n=11) Rerata ± SD	Nilai p = 0,05
Luas				
Sebelum	1,9 ± 1,2		2,1 ± 1,02	
Setelah	1,2 ± 1,3		0,1 ± 0,3	
Selisih	0,9 ± 0,8	0,128	2,1 ± 1,04	0,003*
Dalam				
Sebelum	0,4 ± 0,1		0,3 ± 0,06	
Setelah	0,2 ± 0,1		0,01 ± 0,06	
Selisih	0,3 ± 0,2	0,024*	0,4 ± 0,2	0,003*

*berbeda bermakna (p<0,05)

Keterangan: FGD = *framycetin gauze dressing*; PM-AMSC-VC = produk metabolit AMSC dengan vitamin C; SD = Standar deviasi.**Tabel 6.** Uji komparasi selisih luas dan dalam ulkus sebelum dan sesudah pengobatan antar dua kelompok penelitian

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks	
Selisih luas ulkus	FGD	11	8,05	88,50	p=0,012*
	PM-AMSC-VC	11	14,95	164,50	
	Total	22			
Selisih dalam ulkus	FGD	11	8,23	90,50	p=0,015*
	PM-AMSC-VC	11	14,77	162,50	
	Total	22			

*berbeda bermakna (p<0,05)

Keterangan: FGD = *framycetin gauze dressing*; PM-AMSC-VC = produk metabolit AMSC dengan vitamin C.

PEMBAHASAN

Semua ulkus pada subjek penelitian pada kedua kelompok dilakukan *surgical debridement* terlebih dahulu. *Debridement* dapat menstimulasi respon host untuk mencegah infeksi dan merubah luka kronis menjadi luka akut.¹⁰ Setelah dilakukan *debridement*, ulkus pada subjek penelitian diberikan terapi baik pemberian FGD pada kelompok kontrol maupun diberikan PM-AMSC-VC pada kelompok perlakuan. Dilakukan penggantian FGD maupun PM-AMSC-VC setiap 3 hari sekali selama maksimal 8 minggu (maksimal 14 kali aplikasi).

Penelitian ini menggunakan derivat vitamin C yaitu *sodium ascorbyl phosphate* (SAP) yang merupakan salah satu diantara derivat vitamin C yang terbukti paling stabil. Untuk membuktikan hal ini maka campuran produk metabolit AMSC dengan SAP dilakukan uji stabilitas di Unit Pelayanan Pengujian Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Dilakukan pencampuran gel produk metabolit *stem cell* dengan 3% SAP, kemudian diukur kadar SAP tiap minggu menggunakan metode HPLC untuk membuktikan apakah terjadi pengurangan kadar SAP atau tidak. Campuran produk metabolit AMSC dengan SAP ini disimpan pada suhu < 25° C. Dari tiap minggu didapatkan hasil kadar SAP minggu ke-1 sebesar 3,10%, minggu ke-2 sebesar 3,02%, minggu ke-3 sebesar 3,09%, dan minggu ke-4 sebesar 3,13%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar SAP dalam produk metabolit AMSC tetap stabil.

Subjek penelitian pada penelitian ini dengan jenis kelamin perempuan lebih banyak daripada laki-laki yaitu 72,7% berjenis kelamin perempuan dan 27,3% berjenis kelamin laki-laki. Jenis kelamin subjek penelitian tersebut tidak sesuai dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan terhadap ulkus MH, yaitu pada penelitian oleh Anandan V dan kawan-kawan tentang efikasi pemberian *platelet rich plasma* terhadap ulkus MH subjek penelitian terbanyak yaitu laki-laki.¹¹ Perbedaan ini dimungkinkan karena pada penelitian ini sebagian besar pekerjaan subjek penelitian yang berjenis kelamin wanita sebagai ibu rumah tangga sehingga mempunyai lebih banyak waktu untuk berobat daripada subjek penelitian yang berjenis kelamin laki-laki. Subjek penelitian pada penelitian ini usia terbanyak adalah diatas usia 45 tahun, yaitu 45-55 tahun sebanyak 8 orang (36,4%), 55-65 tahun sebanyak 7 orang (31,8%), >65 tahun sebanyak 2 orang (9,1%), tidak ada subjek penelitian yang berusia dibawah 26 tahun, dengan rerata usia 52,6 ± 10,6 tahun, dan hasil uji *Fisher* usia didapatkan p=1,00

yaitu tidak terdapat hubungan antara usia dengan pemberian FGD maupun pemberian gel campuran PM-AMSC-VC. Usia subjek penelitian ini sesuai dengan usia subjek penelitian pada berbagai penelitian tentang ulkus pada pasien MH diantaranya adalah penelitian oleh Desancho dan kawan-kawan yang meneliti kualitas kesehatan ulkus MH yang memiliki rerata usia 45 tahun.¹² Usia merupakan salah satu faktor sistemik yang berpengaruh terhadap penyembuhan luka, pada penelitian ini dapat dilihat bahwa sebagian besar subjek penelitian merupakan pasien dengan usia diatas 45 tahun, dimana semakin tua seseorang maka semakin besar terjadinya gangguan penyembuhan luka. Penelitian oleh Gosain dan kawan-kawan, dan Keylock dan kawan-kawan, bahwa pada orang dewasa sehat yang lebih tua, penuaan akan menyebabkan tertundanya penyembuhan luka. Kemampuan penyembuhan luka seiring bertambahnya usia juga berubah dan perubahan tersebut terjadi pada semua fase penyembuhan luka yaitu terjadi peningkatan agregrasi platelet, peningkatan sekresi mediator-mediator inflamasi, infiltrasi makrofag dan limfosit yang terlambat, gangguan fungsi makrofag, penurunan sekresi *growth factor*, reepitelialisasi yang terlambat, angiogenesis dan deposisi kolagen yang terlambat, penurunan *turnover* dan *remodeling* kolagen, serta terjadi penurunan kekuatan luka.^{13,14,15}

Salah satu terapi pada ulkus plantar kronis adalah istirahat yaitu menghindari berjalan dan menahan beban tubuh atau hanya mengistirahatkan bagian kaki.^{16,17} Semua subjek penelitian pada penelitian ini merupakan pasien poliklinis yang tetap beraktivitas dan bekerja seperti biasa. Peneliti hanya menyarankan untuk mengurangi aktivitas berdiri/berjalan lama selama penelitian. Pengelompokan subjek penelitian berdasarkan aktivitas berdiri/berjalan lama dengan tujuan pemilihan pasangan serasi (*matching*) untuk mengurangi bias antar kelompok sehingga diharapkan kedua kelompok homogen dan dapat dibandingkan yang lebih baik antara kelompok FGD dan PM-AMSC-VC.

Sebagian besar subjek penelitian yaitu sebesar 54,5% memiliki pekerjaan yang membutuhkan berdiri/berjalan lama, dan 45,5% memiliki pekerjaan yang tidak membutuhkan berdiri/berjalan lama. Semakin lama seseorang berjalan atau berdiri semakin tinggi tekanan pada kaki, sehingga pada pasien MH semakin beresiko terjadinya ulkus. Penelitian lainnya oleh Sabato S dan kawan-kawan mengenai ulkus tropik pada MH yaitu terdapat hubungan antara kejadian ulkus dan jumlah tekanan pada area kaki

yang terdapat ulkus tersebut, semakin tinggi tekanan pada area tertentu pada kaki maka semakin beresiko terjadinya ulkus. Besarnya tekanan pada kaki dipengaruhi oleh berat badan, permukaan kaki, gerakan dari sendi dan jempol kaki, amputasi, derajat anastesi, keparahan neuropati, deformitas dan hipomobilitas. Semakin lama seseorang berdiri/berjalan dan semakin besar berat badannya juga semakin besar tekanan pada kaki. Pasien MH dengan neuropati distal menyebabkan kelemahan pada otot intrinsik dan otot peroneus eksternus sehingga terjadi deformitas kaki. Deformitas menyebabkan distribusi *weightbearing* yang abnormal pada kaki. Akibat tekanan yang besar maka area yang abnormal tersebut akan mudah terjadi ulkus. Dalam hal ini pekerjaan mempunyai pengaruh terhadap terjadinya ulkus pada subjek penelitian. Semakin lama seseorang dalam berdiri atau berjalan karena pekerjaan maka semakin besar kemungkinan terjadinya ulkus pada plantar.^{16,17}

Pada penelitian ini lama ulkus kronis paling banyak berkisar 1-5 tahun yaitu pada 14 ulkus (63,6%), selanjutnya < 1 tahun pada 7 ulkus (31,8%), dan >5 tahun pada 1 ulkus dengan rerata lama ulkus kronis pada kedua kelompok penelitian sebesar $1,6 \pm 2,1$. Uji *Fisher's* pada lama ulkus didapatkan $p=0,214$ yaitu tidak terdapat hubungan antara lama ulkus dengan pemberian FGD maupun PM-AMSC-VC. Belum adanya penelitian mengenai pengaruh lama ulkus dengan terapi, tetapi beberapa penelitian mengenai ulkus plantar kronis MH menunjukkan bahwa ulkus tersebut biasanya telah berlangsung sangat lama, yaitu penelitian oleh Reynolds CL dan kawan-kawan mengenai terapi topikal *wheatgrass* pada ulkus plantar MH dimana rata-rata ulkus pada subjek penelitian berlangsung 10,4 tahun. Semua ulkus mempunyai luas 1-4 cm² dengan rerata ukuran luas awal ulkus pada kedua kelompok penelitian sebesar $2,1 \pm 1,1$ cm². Uji Mann-Whitney pada luas ulkus didapatkan hasil $p=0,345$ yaitu tidak didapatkan hubungan antara luas awal ulkus dengan pemberian FGD maupun campuran PM-AMSC-VC. Pengelompokan berdasarkan luas luka pada penelitian ini dengan tujuan pemilihan pasangan serasi antara kelompok kontrol dan perlakuan sehingga memperkecil bias. Penelitian ini tidak bertujuan mengukur penyembuhan luka berdasarkan luas ulkus.

Pada penelitian ini semua ulkus terletak pada area telapak kaki depan (*forefoot*). Hal ini sesuai dengan studi oleh Anandan dan kawan-kawan, yang meneliti efikasi *platelet rich plasma* terhadap ulkus MH dimana 52% ulkus terletak pada telapak kaki depan, 20% pada lateral malleolus dan 16% pada tumit. Area plantar paling sering terjadi ulkus akibat

adanya perubahan biomekanis dan penurunan sensitivitas. Ulkus plantar paling banyak terjadi pada area *forefoot* yaitu 7 kali lebih besar daripada area tumit karena area ini merupakan tempat tekanan paling besar. Paling banyak terjadi pada area dibawah *metarsal head* pertama, setelah itu *metarsal head* kedua dan kelima. Jaringan pada area tersebut memang digunakan dengan tujuan sebagai penahan berat badan sehingga sangat sulit untuk pulih apabila terjadi luka, hal ini diperparah dengan adanya gangguan sensoris pada pasien MH.¹⁶

Kemajuan ulkus secara klinis pada akhir penelitian pada kelompok FGD terdapat 2 ulkus sembuh (18,2%), 4 ulkus (36,4%) membaik, 4 ulkus (36,4%) tetap, dan 1 ulkus (9,1%) memburuk. Sedangkan pada kelompok campuran PM-AMSC-VC terdapat 10 ulkus (90,9%) sembuh dan 1 ulkus (9,1%) membaik. Hasil uji *Fisher* didapatkan hasil $p=0,007$ yaitu terdapat hubungan antara kemajuan ulkus secara klinis baik sembuh, membaik, tetap, maupun memburuk dengan pemberian FGD maupun campuran PM-AMSC-VC.

Rerata persentase berkurangnya luas ulkus dan dalam ulkus pada kelompok campuran PM-AMSC-VC lebih besar dibandingkan dengan kelompok FGD. Pada minggu ke 8 didapatkan rerata persentase berkurangnya luas ulkus sebesar $44,7 \pm 44,8\%$ dan dalam ulkus sebesar $36,1 \pm 39,8\%$ pada kelompok FGD serta rerata persentase berkurangnya luas ulkus pada kelompok campuran PM-AMSC-VC $93,9 \pm 20,1\%$ dalam ulkus sebesar $95,6 \pm 15,1\%$. Persentase berkurangnya luas dan dalam ulkus yang lebih besar pada kelompok PM-AMSC-VC yang lebih besar daripada kelompok FGD tersebut menunjukkan bahwa PM-AMSC-VC berpengaruh baik terhadap ulkus plantar MH.

Rerata luas ulkus tiap minggu pada kelompok FGD mengalami penurunan kecuali pada antara minggu ke-5 dengan minggu ke-6 ($1,25 \pm 1,25$ cm²) dan antara minggu ke-7 dengan minggu ke-8 ($1,27 \pm 1,32$ cm²) mengalami kenaikan, hasil p berbeda bermakna hanya didapatkan pada antara minggu awal dengan minggu ke-1 ($p=0,025$) dan antara minggu ke-1 dengan minggu ke-2 (0,039). Sedangkan pada kelompok PM-AMSC-VC terjadi penurunan rerata luas ulkus setiap minggu sampai minggu ke-8 dengan p yang bermakna pada antara minggu awal dengan minggu ke-1, antara minggu ke-1 dengan minggu ke-2, antara minggu ke-2 dengan minggu ke-3, antara minggu ke-3 dengan minggu ke-4. Sedangkan pada rerata kedalaman ulkus pada kelompok FGD mengalami penurunan setiap minggunya dari awal sampai akhir pengobatan, dengan p yang tidak berbeda bermakna pada setiap minggunya. Rerata

dalam ulkus pada kelompok PM-AMSC-VC mengalami penurunan sejak minggu pertama hingga akhir pengobatan dengan rerata kedalaman berbeda bermakna hanya terjadi antara minggu ke-3 dan minggu ke-4 ($0,16 \pm 0,08$ cm dan $0,08 \pm 0,08$ cm, $p=0,000$) dan antara minggu ke-4 dan minggu ke-5 ($0,08 \pm 0,08$ cm dan $0,05 \pm 0,08$ cm, $p=0,015$).

Uji statistik rerata luas antar kelompok pada setiap minggu tidak didapatkan perbedaan bermakna dari awal sampai minggu ke-3, tetapi pada minggu ke-5 sampai akhir pengobatan didapatkan perbedaan bermakna ($p=0,04$, $p=0,007$, $p=0,002$, $p=0,002$, $p=0,001$). Uji statistik dalam ulkus didapatkan perbedaan bermakna mulai minggu ke-3 sampai minggu ke-8 ($p=0,023$, $p=0,005$, $p=0,003$, $p=0,002$, $p=0,001$, $p=0,001$), sedangkan pada awal sampai minggu ke-2 tidak didapatkan perbedaan bermakna. Uji statistik selisih luas ulkus pada kelompok FGD didapatkan tidak ada perbedaan bermakna sebelum dan sesudah pengobatan ($p=0,128$) namun pada rerata selisih dalam terdapat perbedaan bermakna dengan $p=0,024$ ($p<0,05$). Rerata selisih luas ulkus pada kelompok campuran PM-AMSC-VC, dan rerata selisih dalam ulkus kelompok campuran PM-AMSC-VC terdapat perbedaan bermakna setelah dilakukan uji statistik yaitu dengan p masing-masing $0,003$ dan $0,003$ ($p<0,05$). Uji komparasi antara kedua kelompok penelitian yaitu kelompok FGD dan PM-AMSC-VC pada selisih luas dan dalam ulkus didapatkan hasil pada selisih luas ulkus $p=0,012$ dan selisih dalam ulkus $p=0,015$, sehingga disimpulkan terdapat perbedaan bermakna pada selisih luas dan dalam ulkus antara kelompok FGD dan PM-AMSC-VC.

Data-data tersebut menunjukkan bahwa pada kelompok PM-AMSC-VC memiliki hasil penyembuhan ulkus yang lebih baik daripada kelompok FGD. Memang sampai saat ini belum ada publikasi penelitian mengenai pengaruh PM-AMSC yang dicampur dengan vitamin C pada ulkus plantar kronis MH. Seperti yang sudah disebutkan diatas, PM-AMSC mempunyai beberapa *growth factor* dan sitokin yang dibutuhkan pada proses penyembuhan luka. Tampaknya kandungan *growth factor* dan sitokin tersebut dapat mengatasi kurangnya *growth factor* dan sitokin pada ulkus kronis, serta mensubstitusi *growth factor* dan sitokin yang ada namun fungsinya berkurang. Penelitian mengenai *growth factor* pada penyembuhan luka telah dilakukan pada manusia, oleh Zhou B dan kawan-kawan pada luka kulit setelah dilakukan laser *ablative CO₂* dan memberikan hasil penyembuhan luka yang lebih cepat dan efek samping yang menurun. Penelitian mengenai *growth factor* yang diakui FDA untuk terapi ulkus

yaitu becaplermin telah banyak dilakukan, becaplermin berisi *recombinant human platelet-derived growth factor (rhPDGF)*. Zhao XH dan kawan-kawan melakukan sistematis review dan meta analisis mengenai efikasi *rhPDGF* pada ulkus ekstremitas bawah pada penderita diabetes dengan total 6 RCT, 992 pasien dari 183 studi. Studi ini membandingkan terapi *rhPDGF* dengan terapi standar dan plasebo, dengan hasil yaitu kombinasi odds rasio yang didapat menunjukkan rasio penyembuhan yang lebih signifikan pada kelompok yang diberikan *rhPDGF* dibandingkan plasebo atau terapi standar (OR 1.53, 95% CI= 1.14 sampai 2.04, $p = 0.004$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terapi *rhPDGF* mempunyai efikasi terhadap ulkus ekstremitas bawah pada penderita diabetes.¹¹

Penelitian mengenai vitamin C topikal telah digunakan manusia yaitu pada ulkus kornea, dan luka bakar. Penelitian pada ulkus kornea dilakukan oleh Parul Singh dan kawan-kawan, menggunakan topikal asam askorbat 10% sebagai terapi tambahan pada terapi konservatif pada ulkus kornea seperti antibiotik sistemik dan topikal, anti jamur sistemik dan topikal, obat-obatan sikloplegi, analgesik, anti inflamasi, vitamin, kacamata gelap, dan istirahat, dibandingkan dengan kelompok kontrol yang hanya mendapatkan terapi konservatif. Pada kelompok coba didapatkan hasil yang lebih baik pada sesudah terapi dalam gejala dan tanda ulkus kornea dibandingkan kelompok kontrol. Asam askorbat tersebut bermanfaat pada regenerasi kornea. Asam askorbat mengatur biosintesis kolagen, lebih dari 80% berat kering kornea terdiri atas kolagen. Selain itu fungsi asam askorbat sebagai antioksidan bermanfaat dalam menghambat radikal bebas yang diproduksi pada proses inflamasi.¹⁸ Penelitian lainnya yaitu oleh Sarpoosh HR dan kawan-kawan, menilai efektifitas topikal vitamin C pada volume jaringan nekrotik pada luka bakar derajat 2. Terdapat 30 pasien dengan luka bakar derajat 2 yang dibagi menjadi kelompok kontrol yang mendapat salep sulfadiazine dan kelompok perlakuan yang mendapat salep sulfadiazine disertai dengan vitamin C. Pada kelompok perlakuan rerata volume jaringan nekrotik awal adalah $1,033 \pm 0,182$ dan pada hari ke-14 rerata volumenya menjadi $1,233 \pm 0,430$, dan pada kelompok kontrol volume jaringan nekrotik awal adalah $1,000 \pm 0,000$ dan pada hari ke-14 rerata volumenya menjadi $1,700 \pm 0,794$. Terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok yaitu pada kelompok perlakuan selisih rerata volume jaringan nekrotik lebih sedikit dibanding kelompok kontrol.¹⁹

Pada penelitian ini fungsi vitamin C yaitu SAP sebagai antioksidan, antiinflamasi, antibakteri dan sintesis kolagen dapat membantu penyembuhan luka dimana pada luka kronis terjadi gangguan pada fase inflamasi, dan fase proliferasi. Kombinasi PM-AMSC yang mempunyai kandungan beberapa sitokin dan *growth factor* dengan vitamin C tampaknya memberikan hasil yang baik pada penyembuhan ulkus plantar kronis MH, dan pada penelitian ini juga tidak didapatkan adanya efek samping pada pemberian campuran PM-AMSC-VC pada ulkus kronis MH.

KEPUSTAKAAN

1. World Health Organization. Global leprosy situation, 2012. WHO Weekly epidemiological record (WER) 2012; 87: 317–28.
2. Dinas kesehatan Provinsi Jawa Timur. Profil Kesehatan Provinsi Jawa Timur Tahun 2012; 2013 Available from: http://www.depkes.go.id/resources/download/profil/PROFIL_KES_PROVINSI_2012/15_Profil_Kes_Prov.JawaTimur_2012.pdf
3. Halim L, Menald SL. Tata Laksana Komprehensif Ulkus Plantar pada Pasien Leprosy. Maj Kedokt Indon 2010; 60: 237-44.
4. Bauman JH, Girling JP, Brand PW. Plantar Pressure and tropic ulceration. J Bone Joint Surg 1963; 4: 652-73.
5. Diegelmann RF, Evan MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. Front Biosci 2004; 9: 283-9.
6. Lindenmair A, Hatlapatka T, Kollwig G, Hennerbichler S, Gabriel C, Wolbank S, et al. Mesenchymal Stem or Stromal Cells from Amnion and Umbilical Cord Tissue and Their Potential for Clinical Applications. Cells 2012; 1: 1061-88.
7. Ennis WJ, Sui A, Bartholomew A. Stem Cells and Healing: Impact on Inflammation. Adv Wound Care 2013; 7: 369-78.
8. Telang PS. Vitamin C in dermatology. Indian Dermatol Online J 2013; 4: 143–6.
9. Ascorbyl Phosphate Magnesium & Ascorbyl Phosphate Sodium. New York. 2013. (cited January 2016). Available from: <http://www.showadenko.us/cms/wp-content/uploads/APM-APS-Technical-Data-Sheet.pdf>.
10. Lebrun E, Tomic-Canic M, Kirsner RS. The role of surgical debridement in healing of diabetic foot ulcers. Wound Rep Reg 2010; 18: 433–43.
11. Anandan V, Jameela WA, Saraswathy P, Sarankumar P, Sarankumar S. Platelet Rich Plasma: Efficacy in Treating Trophic Ulcers in Leprosy. J Clin Diagnostic Res 2016; 10: 10.
12. Desancho M, Kiranjha, William A. Health beliefs surrounding leprosy induced foot ulceration; an exploratory qualitative study from South Nepal. Lepr Rev 2015; 86: 254–64.
13. Guo S, DiPietro LA. Factors Affecting Wound Healing, S. J Dent Res 2010; 89(3): 219-29.
14. Swift ME, Burns AL, Gray KL, DiPietro LA. Age-related alterations in the inflammatory response to dermal injury. J Invest Dermatol 2001; 117:1027-35.
15. Sgonc R, Gruber J. Age-Related Aspect of Cutaneous Wound Healing: A Mini-Review. Gerontology 2013; 59(2): 159-64.
16. Birke AJ, Novick A, Hawkins ES, Patout C. A Review of Causes of Foot Ulceration in Patients with Diabetes Mellitus. J Prosthet Orthot 1991; 4: 13-22.
17. Sabato S, Yosipovitch Z, Simkin A, Sheskin J. Plantar Trophic Ulcers in Patients with Leprosy A Correlative Study of Sensation, Pressure and Mobility International Orthopaedics. Int Orthop 1982; 6:203-8
18. Singh P, Singh P. Role of Topical Ascorbic Acid in Management of Refractory Corneal Ulcer. IOSR J Pharm 2012; 2: 1-4
19. Sarpooshi HM, Vaheb M, Tabarayee Y, Sabzevar AV, Mortazavi F. The effects of topical vitamin C solution on the necrotic tissue volume of burn wounds. J Nurs Midwifery Sci 2016; 3(3): 11-17.

- umbilical cord mesenchymal stem cells (hucmscs) with gelatin solvent. *JBISE*. 2015;8:420–428.
8. Hatano K. Prevention and management of impairments and disabilities. In: Makino M, Matsuoka M, Goto M, et al. editors. *Leprosy-Science working towards dignity*. 1st ed. Kanagawa: Tokai University Press; 2011. p. 174–185.
 9. Rennie K, Gruslin A, Hengstschlager M, et al. Application of amniotic membrane and fluid in stem cell biology and regenerative medicine. *Stem Cells Int*. 2012;2012:721538.
 10. Jayaraman P, Nathan P, Vasanthan P, et al. Stem cell conditioned medium: a new approach to skin wound healing management. *Cell Biol Int*. 2013;37:1122–1128.
 11. Falanga V, Satori I. Mechanisms of wound repair, wound healing, and wound dressing. In: Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrist BA, et al. editors. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*, 8th edition. New York: The McGraw-Hill Companies; 2008. p. 2984–2996.
 12. Diaz-Prado S, Lopez EM, Gomez TH, et al. Isolation and characterization of mesenchymal stem cells from human amniotic membrane. *Tissue Eng Part C Methods*. 2011;17:49–59.
 13. Ennis WJ, Sui A, Bartholomew A. Stem cells and healing: impact on inflammation. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2013;2:369–378.
 14. Gregory C, Gunn W, Peister A, et al. An alizarin red-based assay of mineralization by adherent cells in culture: comparison with cetylpyridinium chloride extraction. *Anal Biochem*. 2005;329:77–84.
 15. Havlik RJ. Vitamin E and wound healing. Plastic surgery educational committee the data foundation. *Plast Reconstr Surg*. 1997;100:1901–1902.
 16. Kouroupis D, Churchman S, English A, et al. Assessment of umbilical cord tissue as a source of mesenchymal stem cell/endothelial cell mixtures for bone regeneration. *Regen Med*. 2013;8:569–581.
 17. Barreto JG, Salgado CG. Clinic-epidemiological evaluation of ulcers in patients with leprosy sequelae and the effect of low level laser therapy on wound healing: a randomized clinical trial. *BMC Infect Dis*. 2010;237:1–9.
 18. Prakoeswa CRS. Efficacy of topical human amniotic membrane mesenchymal stem cell-conditioned medium (hAMMSC-CM) on the healing of chronic plantar ulcers in leprosy: a controlled prospective clinical trial. *Forthcoming*.
 19. Telang PS. Vitamin C in dermatology. *Indian Dermatol Online J*. 2013;4:143–146.
 20. Moro O. Biological activities of stable ascorbic acid derivative, 2-O-a-D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid (AA-2G) in cosmetics. *Shiseido Research Center. J Appl Cosmetol*. 1999;18:154–163.
 21. Thiele J, Ekanayake-Mudiyanselage S. Vitamin E in human skin: organ-specific physiology and consideration for its use in dermatology. *Mol Aspects Med*. 2007;28:646.
 22. Fiori G, Galluccio F, Braschi F, et al. Vitamin E gel Reduces the time of healing of digital ulcers in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*. 2009;27:51–54.
 23. Maxson S, Lopez EA, Yoo D, et al. Concise review: the role of mesenchymal stem cells in wound repair. *Stem Cells Transl Med*. 2012;1:142–149.
 24. Levinson H. A Paradigm of fibroblast activation and dermal wound contraction to guide the development of therapies for chronic wounds and pathologic scars. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2013;2:149–159.
 25. Wu SC, Crews RT, Armstrong DG. The pivotal role of offloading in the management of neuropathic foot ulceration. *Curr Diab Rep*. 2005;5:423.
 26. Singh P, Singh P. Role of topical ascorbic acid in management of refractory corneal ulcer. *IOSR J Pharm*. 2012;2:1–4.
 27. Sarpooshi HM, Vaheb M, Tabarayee Y, et al. The effects of topical vitamin C solution on the necrotic tissue volume of burn wounds. *JNMS*. 2016;3:11–17.
 28. Fite A, Dykhuizen R, Litterick A, et al. Effects of Ascorbic acid, glutathione, thiocyanate, and iodide on antimicrobial activity of acidified nitrite. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:655–665.



KEMENTERIAN PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
REPUBLIC INDONESIA
DIREKTORAT JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
Jl. H.R. Rasuna Said Kav 8-9, Kuningan, Jakarta Selatan, 12940
Telepon: (021) 57905611 Faksimili: (021) 57905611
Laman: <http://www.dgip.go.id> Surel: dopatient@dgip.go.id

Nomor : HKI.3-HI.05.01.02.P00201802254
Lampiran : 1 (satu) berkas
Hal : Pemberitahuan Persyaratan Formalitas Telah Dipenuhi

Jakarta, 02 April 2018

Yth. Universitas Airlangga
Lembaga Pengembangan Bisnis Dan Inkubasi
Kampus C Mulyorejo
Kota Surabaya 60115

Dengan ini diberitahukan bahwa Permohonan Paten:

- Tanggal Pengajuan : 27 Maret 2018
(21) Nomor Permohonan : P00201802254
(71) Pemohon : Universitas Airlangga
(54) Judul Inovasi : Pengaruh pemberian campuran topikal produk metabolit Amniotic Membrane Stem Cell Conditioned Medium (AMSC-CM) dengan vitamin E pada penyembuhan ulkus plantar kronis morbus hansen
(30) Data Prioritas :
(74) Konsultan HKI :
(22) Tanggal Penerimaan : 27 Maret 2018

telah melewati tahap pemeriksaan formalitas dan semua persyaratan formalitas telah dipenuhi. Untuk itu akan dilakukan:

1. Pengumuman, segera 7 (tujuh) hari setelah 18 (delapan belas) bulan sejak tanggal penerimaan atau tanggal prioritas dalam hal Paten Biasa (Pasal 46 UU No 13 Tahun 2016); atau segera 7 (tujuh) hari setelah 3 (tiga) bulan sejak tanggal penerimaan atau tanggal prioritas, dalam hal Paten Sederhana (Pasal 123 UU No 13 Tahun 2016).
2. Pemeriksaan Substantif segera setelah masa publikasi selesai dan pemohon telah mengajukan permohonan pemeriksaan substantif (Pasal 51 UU No 13 Tahun 2016).

Selain itu hal-hal yang perlu diperhatikan adalah sebagai berikut:

1. Permohonan pemeriksaan substantif diajukan selambat-lambatnya 36 (tiga puluh enam) bulan sejak tanggal penerimaan untuk permohonan paten biasa dan selambat-lambatnya 6 (enam) bulan sejak tanggal penerimaan untuk permohonan paten sederhana, dengan disertai biaya sesuai yang tercantum pada PP No. 45 Tahun 2016.
2. Tidak diajukan permohonan pemeriksaan substantif dalam jangka waktu yang ditentukan tersebut akan mengakibatkan permohonan paten ini dianggap ditarik kembali.
3. Harap melakukan pembayaran kelebihan buah klaim (@50.000) sebesar Rp. .
4. Pembayaran tambahan biaya akibat kelebihan jumlah klaim, dilakukan selambat-lambatnya pada saat pengajuan pemeriksaan substantif. Apabila tambahan biaya tidak dibayarkan dalam jangka waktu sebagaimana dimaksud maka kelebihan jumlah klaim dianggap ditarik kembali (Pasal 28 ayat 2 dan 3 PP 34 Tahun 1991).
5. Jumlah halaman deskripsi yang terbayar halaman (Bila halaman deskripsi lebih dari 30).



00-2018-79975

a.n. Direktur Paten, Desain Tata Letak
Sirkuit Terpadu dan Rahasia Dagang
Kasubdit Permohonan dan Publikasi,

Ir. Arif Syamsudin, S.H., M.Si.
NIP. 196303021987111001

Tembusan:
Direktur Jenderal Kekayaan Intelektual.

Form HKI/3/003/2016



KEMENTERIAN PERKULIAHAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
REPUBLIC INDONESIA
DIREKTORAT JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
Jl. H.R. Rasuna Said Kav 8-9, Kuningan, Jakarta Selatan, 12940
Telepon: (021) 57905611 Faksimili: (021) 57905611
Laman: <http://www.dgip.go.id> Surel: dopatent@dgip.go.id

Nomor : HKI.3-HI.05.01.02.P00201802256
Lampiran : 1 (satu) berkas
Hal : Pemberitahuan Persyaratan Formalitas Telah Dipenuhi

Jakarta, 29 Maret 2018

Yth. Universitas Airlangga
Lembaga Pengembangan Bisnis Dan Inkubasi
Kampus C Mulyorejo, Surabaya 60115

Dengan ini diberitahukan bahwa Permohonan Paten:

Tanggal Pengajuan : 27 Maret 2018
(21) Nomor Permohonan : P00201802256
(71) Pemohon : Universitas Airlangga
(54) Judul Invensi : PENGARUH PEMBERIAN CAMPURAN TOPIKAL PRODUK METABOLIT AMNIOTIC MEMBRANE STEM CELL CONDITIONED MEDIUM (AMSC-CM) DENGAN VITAMIN C PADA PENYEMBUHAN ULKUS PLANTAR KRONIS MORBUS HANSEN
(30) Data Prioritas :
(74) Konsultan HKI :
(22) Tanggal Penerimaan : 27 Maret 2018

telah melewati tahap pemeriksaan formalitas dan semua persyaratan formalitas telah dipenuhi. Untuk itu akan dilakukan:

1. Pengumuman, segera 7 (tujuh) hari setelah 18 (delapan belas) bulan sejak tanggal penerimaan atau tanggal prioritas dalam hal Paten Biasa (Pasal 46 UU No 13 Tahun 2016); atau segera 7 (tujuh) hari setelah 3 (tiga) bulan sejak tanggal penerimaan atau tanggal prioritas, dalam hal Paten Sederhana (Pasal 123 UU No 13 Tahun 2016).
2. Pemeriksaan Substantif segera setelah masa publikasi selesai dan pemohon telah mengajukan permohonan pemeriksaan substantif (Pasal 51 UU No 13 Tahun 2016).

Selain itu hal-hal yang perlu diperhatikan adalah sebagai berikut:

1. Permohonan pemeriksaan substantif diajukan selambat-lambatnya 36 (tiga puluh enam) bulan sejak tanggal penerimaan untuk permohonan paten biasa dan selambat-lambatnya 6 (enam) bulan sejak tanggal penerimaan untuk permohonan paten sederhana, dengan disertai biaya sesuai yang tercantum pada PP No. 45 Tahun 2016.
2. Tidak diajukan permohonan pemeriksaan substantif dalam jangka waktu yang ditentukan tersebut akan mengakibatkan permohonan paten ini dianggap ditarik kembali.
3. Harap melakukan pembayaran kelebihan buah klaim (@50.000) sebesar Rp. .
4. Pembayaran tambahan biaya akibat kelebihan jumlah klaim, dilakukan selambat-lambatnya pada saat pengajuan pemeriksaan substantif. Apabila tambahan biaya tidak dibayarkan dalam jangka waktu sebagaimana dimaksud maka kelebihan jumlah klaim dianggap ditarik kembali (Pasal 28 ayat 2 dan 3 PP 34 Tahun 1991).
5. Jumlah halaman deskripsi yang terbayar halaman (Bila halaman deskripsi lebih dari 30).



00-2018-79381



Tembusan:
Direktur Jenderal Kekayaan Intelektual.

Form HKI/3/003/2016



KEMENTERIAN PERUSAHAAN DAN KUALITAS MANUSIA
REPUBLIC INDONESIA
DIREKTORAT JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
Jl. H.R. Rasuna Said Kav 3-9, Kuningan, Jakarta Selatan, 12940
Telepon: (021) 57905611 Faksimili: (021) 57905611
Laman: <http://www.dgip.go.id> Surel: dopatent@dgip.go.id

Nomor : HKI.3-HI.05.01.02.P00201802248
Lampiran : 1 (satu) berkas
Hal : Pemberitahuan Persyaratan Formalitas Telah Dipenuhi

Jakarta, 02 April 2018

Yth. Universitas Airlangga
Lembaga Pengembangan Bisnis dan
Inkubasi
Kampus C Mulyorejo, Surabaya 60115

Dengan ini diberitahukan bahwa Permohonan Paten:

Tanggal Pengajuan : 27 Maret 2018
(21) Nomor Permohonan : P00201802248
(71) Pemohon : Universitas Airlangga
(54) Judul Invensi : Pengaruh Pemberian Topikal Produk Metabolit Amniotic
Membrane Stem Cell Conditioned Medium (AMSC-CM) pada
Penyembuhan Ulkus Plantar Kronis Mor bus Hansen
(30) Data Prioritas :
(74) Konsultan HKI :
(22) Tanggal Penerimaan : 27 Maret 2018

telah melewati tahap pemeriksaan formalitas dan semua persyaratan formalitas telah dipenuhi. Untuk itu akan dilakukan:

1. Pengumuman, segera 7 (tujuh) hari setelah 18 (delapan belas) bulan sejak tanggal penerimaan atau tanggal prioritas dalam hal Paten Biasa (Pasal 46 UU No 13 Tahun 2016); atau segera 7 (tujuh) hari setelah 3 (tiga) bulan sejak tanggal penerimaan atau tanggal prioritas, dalam hal Paten Sederhana (Pasal 123 UU No 13 Tahun 2016).
2. Pemeriksaan Substantif segera setelah masa publikasi selesai dan pemohon telah mengajukan permohonan pemeriksaan substantif (Pasal 51 UU No 13 Tahun 2016).

Selain itu hal-hal yang perlu diperhatikan adalah sebagai berikut:

1. Permohonan pemeriksaan substantif diajukan selambat-lambatnya 36 (tiga puluh enam) bulan sejak tanggal penerimaan untuk permohonan paten biasa dan selambat-lambatnya 6 (enam) bulan sejak tanggal penerimaan untuk permohonan paten sederhana, dengan disertai biaya sesuai yang tercantum pada PP No. 45 Tahun 2016.
2. Tidak diajukan permohonan pemeriksaan substantif dalam jangka waktu yang ditentukan tersebut akan mengakibatkan permohonan paten ini dianggap ditarik kembali.
3. Harap melakukan pembayaran kelebihan buah klaim (@50.000) sebesar Rp. .
4. Pembayaran tambahan biaya akibat kelebihan jumlah klaim, dilakukan selambat-lambatnya pada saat pengajuan pemeriksaan substantif. Apabila tambahan biaya tidak dibayarkan dalam jangka waktu sebagaimana dimaksud maka kelebihan jumlah klaim dianggap ditarik kembali (Pasal 28 ayat 2 dan 3 PP 34 Tahun 1991).
5. Jumlah halaman deskripsi yang terbayar halaman (Bila halaman deskripsi lebih dari 30).



00-2018-80369

a.n. Direktur Paten, Desain Tata Letak
Sirkuit Terpadu dan Rahasia Dagang
Kasubdit Permohonan dan Publikasi,

Ir. Arif Syamsudin, S.H., M.Si.
NIP. 196303021987111001

Tembusan:
Direktur Jenderal Kekayaan Intelektual.

Form HKI/3/003/2016