

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 endothelial, 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 \pm SD	26,9 \pm 25,2	30,3 \pm 17,7
- Minggu 2 \pm SD	37,1 \pm 32,5	59,6 \pm 23,5
- Minggu 3 \pm SD	38,6 \pm 38,4	77,7 \pm 29,7
- Minggu 4 \pm SD	40,9 \pm 39,9	87,9 \pm 22,3
- Minggu 5 \pm SD	42,8 \pm 40,3	92,9 \pm 15,3
- Minggu 6 \pm SD	41,3 \pm 43,6	95,6 \pm 15,1
- Minggu 7 \pm SD	44,7 \pm 44,8	95,6 \pm 15,1
- Minggu 8 \pm SD	44,7 \pm 44,8	95,6 \pm 15,1
Rerata persentase berkurangnya dalam ulkus (%)		
- Minggu 1 \pm SD	5,3 \pm 11,9	24,2 \pm 17,8
- Minggu 2 \pm SD	12,9 \pm 23,9	53,0 \pm 25,6
- Minggu 3 \pm SD	20,5 \pm 40,2	71,9 \pm 29,9
- Minggu 4 \pm SD	22,3 \pm 39,5	82,6 \pm 27
- Minggu 5 \pm SD	26,4 \pm 39,6	87,8 \pm 22,5
- Minggu 6 \pm SD	29,4 \pm 38,6	93,9 \pm 20,1
- Minggu 7 \pm SD	33,02 \pm 38,5	93,9 \pm 20,1
- Minggu 8 \pm SD	36,1 \pm 39,8	93,9 \pm 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 RSU 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 ulkus	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 ulkus	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 $52,6 \pm 10,6$ 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 Desancha 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 agregasi 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 poliklinik 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 terdapat 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 trophic 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.