

**EFEKTIFITAS SALEP MINYAK BUAH MERAH TERHADAP PROSES
PENYEMBUHAN LUKA SAYATAN PADA TIKUS GALUR WISTAR LUKA
DIABETIK STADIUM II**

*THE EFFECTIVENESS OF AN OINTMENT OIL FRUIT RED AGAINST THE PROCESS
OF HEALING WOUNDS INCISION IN MOUSE GALUR WISTAR WOUND
RETINOPATHY STAGE TWO*

Daud Yusuf Rumbrawer, Ari Suwando, Arwani

Program Studi Magister Epidemiologi, Program Pascasarjana UNDIP

Email: rumbrawer_d@yahoo.com

Diterima: 12 Agustus 2016, Direvisi: 18 Agustus 2016, Disetujui: 20 Oktober 2016

ABSTRAK

Luka diabetik sampai saat ini menjadi masalah kesehatan utama di seluruh dunia, terutama di Indonesia karena kasus yang semakin meningkat, luka bersifat kronis dan sulit sembuh, mengalami infeksi dan iskemia tungkai dengan risiko amputasi bahkan mengancam jiwa. Minyak Buah Merah mengandung berbagai komponen aktif yaitu α -karoten, β -karoten, β -kriptosantin, dan α -tokoferol, serta asam lemak tidak jenuh, terutama asam oleat, linoleat dan palmitoleat yang) berkhasiat mengobati mata rabun, gatal-gatal, luka tergores, pegal dan capek, menyuburkan rambut, mengobati kanker dan penyakit degeneratif (jantung, kolesterol, diabetes, darah tinggi). Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan efektifitas salep Minyak Buah Merah terhadap proses penyembuhan luka sayatan pada tikus galur wistar luka diabetik stadium II. Jenis penelitian ini adalah True Experimental Design, dengan rancangan penelitian Pretest – Posttest Control Group Design. Subjek penelitian yaitu 27 ekor tikus galur wistar jantan yang terbagi menjadi tiga kelompok yaitu kontrol (kasa NaCl 0,9%), kelompok perlakuan I, MBM 15%, kelompok perlakuan II, MBM 30%, masing-masing tikus galur wistar diadaptasi kemudian diberikan obat injeksi aloxan 125gr/kg/bb untuk mematikan insulin nya serta dilakukan insisi (luka sayatan) pada punggung 2 cm, kontrol (kasa NaCl 0,9%), di kasih kasa lembab tiap hari, kelompok perlakuan I salep minyak buah merah 15%, dan kelompok perlakuan II salep minyak buah merah 30%, dioleskan pada luka serta ditutup dan dilakukan pengamatan dan pengukuran selama 21 hari untuk membuktikan proses penyembuhan luka diabetik pada pada ketiga kelompok. Hasil uji statistik kontrol kasa NaCl 0,9% dan kelompok perlakuan II salep MBM 30% efektif pada hari ke 7, 14 dan 21 uji Post Hoc Tukey HSD didapatkan nilai p 0,032, mengalami penyembuhan. Sedangkan kelompok kontrol kasa NaCl 0,9% dan kelompok perlakuan I MBM 15 % didapatkan nilai p 0,935 pada hari ke 7 dan pada hari ke 14 dan 21 efektif, didapatkan nilai p 0,000. Simpulan penelitian ini adalah pemberian salep minyak buah merah 30% selama 7 hari membuktikan efektif terhadap proses penyembuhan luka sayatan pada tikus galur wistar luka diabetik stadium II secara bermakna.

Kata kunci: Salep MBM 30%, proses penyembuhan luka diabetik stadium II.

ABSTRACT

Wound retinopathy until now is the main health problems of around the world, especially in indonesia because the case with the increasing, wound is chronic and difficult recover, a sinus infection and ischemia a limb with the risk amputation even life-threatening. Oil red fruit containing various active component namely α -karoten, β -karoten, β -kriptosantin and α -tokoferol, and fatty acids not saturated, especially oleic acid, linoleic and palmitoleat who efficacious treat eyes shortsighted, itching, wound scratched, sore and tired, drains hair, treat cancer and degenerative diseases (the heart, cholesterol, diabetes, high blood). The study is done to prove the effectiveness of an ointment oil fruit red (pandanus conoideus oil) of the healing process wound incision in mouse galur wistar (rattus novergicus) wound retinopathy stage two. This type of research is True Experimental Design, the research design pretest - posttest control group design. Subject of research that 27 male wistar strain rats were divided into three groups: control (gauze NaCl 0.9%), the treatment group one ointment oil fruit red 15%, group two ointment oil fruit red 30%, respectively wistar strain rats were then given a drug injection adapted aloxan 125gr / kg / weight, to shut down its insulin and dilakukan incisions (cuts) on the back 2 cm, control (gauze NaCl 0.9%), in love moist gauze every day, group one ointment red fruit 15%, and the group treatment of red fruit II ointment 30%, dioleska on the wound as well as closed and dilakukan observations and measurements for 21 days to prove the diabetic wound healing process in the three groups. The results of statistik test control gauze NaCl 0.9 % and the treatment group two ointment oil fruit red 30% effective in day to 7, 14 and 21 test Post Hoc Tukey HSD obtained value p 0,032, experienced healing. While the control gauze NaCl 0.9 % and the treatment group one ointment oil fruit red 15% obtained value p 0,935 on the day 7th and on the day to the 14th and 21 effective, obtained value p 0,000. **Conclusions:** Red fruit oil lubrication 30% for 7 days to prove effective against the incision wound healing in rats wistar strain stage twodiabetic wounds significantly.

Keywords: Red fruit oil ointment 30%, diabetic wound healing process stage two.

PENDAHULUAN

Luka diabetik sampai saat ini menjadi masalah kesehatan utama di seluruh dunia, karena kasus yang semakin meningkat, luka bersifat kronis dan sulit sembuh, mengalami infeksi dan iskemia tungkai dengan risiko amputasi bahkan mengancam jiwa, membutuhkan sumber daya kesehatan yang besar, sehingga memberi beban sosio-ekonomi bagi pasien, masyarakat, dan negara. Berbagai metode pengobatan telah dikembangkan namun sampai saat ini belum memberikan hasil yang memuaskan.

Peningkatan populasi penderita diabetes mellitus (DM), berdampak pada

peningkatan kejadian luka diabetik sebagai komplikasi kronis DM, dimana sebanyak 15-25% penderita DM akan mengalami luka diabetik di dalam hidup mereka (Singh, 2005).

Organisasi Kesehatan Dunia (World Health Organisation, WHO) memprediksi kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030 (Pusat Data dan Informasi PERSI, 2012). Risiko infeksi dan amputasi masih cukup tinggi, yaitu 40-80% luka diabetik mengalami infeksi (Bernard, 2007) 14-20% memerlukan amputasi (Frykberg, 2000) 66% mengalami kekambuhan dan

12% memiliki risiko amputasi dalam 5 tahun setelah sembuh. Di Amerika Serikat, Huang (2009), memproyeksikan jumlah penyandang DM dalam 25 tahun ke depan (antara tahun 2009-2034) akan meningkat 2 kali lipat dari 23,7 juta menjadi 44,1 juta, biaya perawatan per tahun meningkat sebanyak 223 miliar dolar dari 113 menjadi 336 miliar dolar. Amerika Serikat biaya pengobatan DM dan komplikasinya pada tahun 2007 di Amerika Serikat mencapai 116 miliar dolar, dimana 33% dari biaya tersebut berkaitan dengan pengobatan luka diabetik (Driver, 2010).

Di Indonesia, berdasarkan laporan Riskesdas tahun 2013 menyebutkan terjadi peningkatan prevalensi pada penderita diabetes melitus yang diperoleh berdasarkan wawancara yaitu 1,1% pada tahun 2007 menjadi 1,5% pada tahun 2013 prevalensi diabetes melitus berdasarkan diagnosis dokter atau gejala pada tahun 2013 sebesar 2,1% dengan prevalensi terdiagnosis dokter tertinggi pada daerah Sulawesi Tengah (3,7%) dan paling rendah pada daerah Jawa Barat (0,5%). Masih dari data tersebut menyebutkan prevalensi dari penderita DM cenderung meningkat pada perempuan dibandingkan dengan laki-laki dan terjadi peningkatan prevalensi penyakit diabetes melitus sesuai dengan pertambahan umur namun mulai umur ≥ 65 tahun cenderung menurun dan tersebut cenderung lebih tinggi bagi penderita yang tinggal di perkotaan dibandingkan dengan di pedesaan.

Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik (BPS) jumlah penyandang diabetes pada tahun 2003 sebanyak 13,7 juta orang dan berdasarkan pola pertambahan penduduk diperkirakan pada 2030 akan ada 20,1 juta penyandang DM dengan tingkat prevalensi 14,7 persen untuk daerah urban dan 7,2 persen di rural. Keadaan ini sangat berkaitan dengan keterlambatan diagnosis dan konsultasi, penanganan yang tidak adekuat, serta

luasnya kerusakan jaringan (Van Baal, 2004). Amputasi kaki lebih sering dilakukan atas dasar infeksi jaringan lunak yang luas atau kombinasi dengan osteomielitis, disamping faktor-faktor lain seperti iskemia oleh karena Peripheral Artery Disease (PAD), dan neuropati (Van Baal, 2004 & Widatalla, 2009). Dengan program pelayanan kesehatan yang terstruktur, dimana semua disiplin ilmu yang terkait bekerja secara koordinatif tercapai penurunan bermakna angka amputasi mayor luka diabetik lebih dari 75% dibandingkan dengan pelayanan standar (Weck, 2013). Gangguan penyembuhan luka diabetik menurut Tellechea, (2010) terjadi karena empat faktor yaitu adanya hiperglikemia yang berlangsung secara terus menerus, lingkungan pro-inflamasi, penyakit arteri perifer, dan neuropati perifer, keempat keadaan di atas secara bersama-sama menyebabkan gangguan fungsi sel imun, respon inflamasi menjadi tidak efektif, disfungsi sel endotel, dan gangguan neovaskularisasi.

Di Jepang, telah dilaporkan bahwa minyak buah merah menghambat proliferasi sel kanker seperti kanker paru-paru S – 180, Lewis, A549 kanker paru-paru non – kecil manusia dan kanker K – MK – 6 jalur sel manusia. Lambung pada tikus (23, 24) Ketika minyak buah merah diberikan kepada tikus SHR – SP, itu meningkat pada umur panjang tikus SHR – SP sebesar 20 %. Dalam studi vitro menggunakan sel melanoma B16 garis mengungkapkan bahwa minyak buah merah tidak cyto–beracun sampai konsentrasi 400 mg/ mL dan ditekan melanogenesis dan tirosinase aktivitas dengan cara yang tergantung dosis. Disarankan dari studi tambahan yang penekanan melanogenesis mungkin terkait dengan degradasi dirangsang tirosinase melalui sistem ubiquitin–proteasome. Beta –cryptoxanthin menekan pertumbuhan sel

kanker paru-paru sel manusia non-kecil, sel A549 in vitro dengan perkiraan 50 % pada konsentrasi 20 $\mu\text{mol/L}$. Sebaliknya, 500 mg/mL (setara dengan 0,05 $\mu\text{mol/L}$ dari beta-*cryptoxanthin*) minyak buah merah menekan pertumbuhan sel kanker A549 dengan 97,5% (M Hatai, H Yoshitomi, T Nishigaki & M GaoTokyo, 2011).

Analisis lengkap berkualitas tinggi minyak buah merah dilakukan di laboratorium terkemuka di Jepang, *outsourcing oleh* M & K Laboratories Inc. Metode analisis kuantitatif karotenoid dalam minyak Buah Merah telah dikembangkan dan dianalisis oleh tim co - kerja Fakultas Farmasi, Universitas Nagasaki, dipimpin oleh mantan wakil presiden Universitas, Prof Dr K. Nakashima (Nishigaki dan K Nakashima, M Hatai, H Yoshitomi, T Nishigaki dan M Gao, 2012).

Universitas Indonesia dan Institut Teknologi Bandung, Indonesia berjanji bahwa dosis minyak buah merah dari 3 x 1 sendok makan per hari (15 $\text{mL} \times 3 = 45 \text{ mL/hari}$) aman. Keamanan *beta - cryptoxanthin* belum ditetapkan, sejauh ini kami diperiksa. Beta - *cryptoxanthin* secara alami terkandung pada isi dari 3,6 mg dan 0,4 mg per 1 cup (200 mL) dalam labu dimasak dan jus jeruk segar, masing-masing minyak buah merah sebanding dengan buah alami dan hasil analisisnya mengungkapkan bahwa isi dari beta - karoten dan beta - *cryptoxanthin* sekitar 5 $\text{mg}/100\text{g}$ (0,05 mg/g) masing-masing. Satu (1) mL/kg berat badan tikus/hari (60 mL atau 54 $\text{g}/60 \text{ kg}$ berat badan manusia) dalam 28 hari berturut-turut administrasi tidak menunjukkan efek samping toksik. Studi farmakokinetik Awal bentuk kapsul buah merah minyak menunjukkan bahwa beta-karoten dan beta- *cryptoxanthin* yang relatif cepat diserap ke dalam darah subyek manusia.

Di Papua, Buah Merah merupakan salah satu makanan tradisional oleh masyarakat Wamena, Papua, buah ini disebut *kuansu*. Nama ilmiahnya *Pandanus Conoideus* karena tanaman Buah Merah termasuk tanaman keluarga pandan-pandan dengan pohon menyerupai pandan, namun tinggi tanaman dapat mencapai 16 meter dengan tinggi batang bebas cabang sendiri setinggi 5-8 m yang diperkokoh akar-akar tunjang pada batang sebelah bawah, buah merah termasuk tanaman endemik, secara umum habitat asal tanaman ini adalah hutan sekunder dengan kondisi tanah lembab, tanaman ini ditemukan tumbuh liar di wilayah Papua dan Papua New Guinea di wilayah Papua, tanaman buah merah ditemukan tumbuh di daerah dengan ketinggian antara 2-2.300 m di atas permukaan laut (dpl) (Budi, 2005; Paimin, 2005).

Buah merah sendiri panjang buahnya mencapai 55 cm, diameter 10-15 cm, dan bobot 3-6 kg. Warnanya saat matang berwarna merah marun terang, walau sebenarnya ada jenis tanaman ini yang berbuah berwarna coklat dan coklat kekuningan. Bagi masyarakat di wamena disajikan untuk makanan pada pesta adat bakar batu. Namun, banyak pula yang memanfaatkannya sebagai obat. Secara tradisional, buah merah dari zaman dahulu secara turun-temurun sudah dikonsumsi karena berkhasiat banyak dalam menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti mencegah penyakit mata, cacangan, kulit, dan meningkatkan stamina.

Adapun penelitian tentang khasiat pengobatan buah merah pertama kali dilakukan oleh peneliti dosen Universitas Cendrawasih (UNCEN) di Jayapura itu Drs.I Made Budi M.S. sebagai ahli gizi dan dosen Universitas Cendrawasih (UNCEN) sempat mengamati secara seksama kebiasaan masyarakat tradisional di Wamena, Timika dan desa-desa

kawasan pegunungan Jayawijaya yang mengonsumsi buah merah. Pengamatan atas masyarakat lokal berbadan lebih kekar dan berstamina tinggi, padahal hidup sehari-hari secara asli tradisional yang serba terbatas dan terbuka dalam berbusana dalam kondisi alam yang keras serta kadang-kadang bercuaca cukup dingin di ketinggian pegunungan. Keistimewaan fisik penduduk lain yakni jarang yang terkena penyakit degeneratif seperti: hipertensi, diabetes, penyakit jantung dan kanker, dll. Dengan meneliti kandungan komposisi gizinya, ternyata dalam ujud sari buah merah itu banyak mengandung antioksidan (kandungan rata-rata): Karoten (12.000 ppm), Betakaroten (700 ppm), Tokoferol (11.000 ppm).I Made Budi. 2006.

Strategi baru yang dikembangkan oleh penulis sendiri dengan membuat salep minyak buah merah yang pertama di Indonesia dan akan diimplementasikan pada pasien luka diabetik, sehingga diperlukan segera perubahan dalam perawatan luka diabetik, dengan memperhatikan gangguan vaskuler karena semua luka kronis menunjukkan hipoksia jaringan, dan tekanan oksigen lokal pada luka kronis.

Obat tradisional tersebut salah satunya berasal dari tanaman buah merah sebagai salah satu tanaman obat memiliki prospek yang baik untuk dikembangkan. Salah satu alasan pengembangannya adalah kandungan bahan aktifnya yang beragam dan cukup tinggi sehingga mampu mencegah dan mengobati berbagai penyakit. Buah merah mengandung berbagai komponen aktif yaitu α -karoten, β -karoten, β -kriptosantin, dan α -tokoferol, serta asam lemak tidak jenuh, terutama asam oleat, linoleat dan palmitoleat (Surono, 2008). Disamping itu dilaporkan pula bahwa minyak buah merah menguntungkan kesehatan secara *in vivo* seperti menghambat tumor dan membunuh sel kanker (Mun'im, 2006; Surono, 2008),

antiinflamasi dan meningkatkan sel imun (Sukandar, 2005; Khiong, 2009) serta meningkatkan fertilitas (Rifki, 2009). Limbongan dan Uhi (2005) melaporkan, buah merah (*pandanus conoideus lam*) berkhasiat mengobati matarabun, gatal-gatal, luka tergores, pegal dancapek, menyuburkan rambut, mengobati kanker dan penyakit degeneratif (jantung, kolesterol, diabetes, darah tinggi), serta untuk kesehatan ternak.

Pengembangan dan penelitian tentang metode perawatan luka telah mengalami banyak perubahan dari konsep tradisional berkembang mengalami perbaikan penambahan secara luas secara *trial and error*. Penerapan prinsip utama dalam perawatan luka utama dalam perawatan yang dari zaman Mesir sampai sekarang tetap digunakan yaitu perawatan luka (*wound care*), pembersihan luka (*wound cleansing*), penutupan luka (*wound closure*), dan perlindungan luka (*wound coverage*). Pengetahuan tentang perawatan luka terutama dari pengalaman empiris, membawa perubahan perkembangan dari konsep tradisional menjadi modern dengan tidak meninggalkan fungsinya terus digali alternatif penggunaan produk untuk pengelolaan luka meliputi *topical agent* dan pembalut (*dressing*).

Pengembangan *Topical agen* melalui penelitian terutama yang berasal dari bahan alami (*herbal*) sebagai terapi alternatif terus dilakukan yang berhubungan dengan material perawatan luka yang tersedia. Material perawatan luka meliputi pembersihan, penutupan dan perlindungan terhadap luka. Hal tersebut mengupayakan terjadinya kondisi ideal luka supaya proses penyembuhan luka tidak mengalami gangguan (Asmussen & Sollner, 1995) dalam Perdana Kusuma DS (2008), Westaby, (1985) dalam buku Carville, (2007) membagi proses penyembuhan luka menjadi tiga tahap, yaitu

inflamasi, rekonstruksi/proliferasi, dan maturasi.

Salep merupakan sediaan untuk pemakaian luar tetapi berbeda dengan krim, yaitu salep memiliki basis minyak. Basis biasanya bersifat anhidrat (tidak mengandung air) sehingga hampir semua sediaan salep tidak dapat bercampur dengan sekresi kulit. Salep biasanya mengandung obat atau campuran obat terlarut atau terdispersi dalam basis, (Tri Rahayu Ningsih, 2013).

Salep Minyak Buah Merah (*pandanus conoideus oil*) adalah sediaan topikal setengah padat berupa, massa lunak yang mudah dioleskan dan digunakan untuk pemakaian *epidermis* dan *dermis* terutama melindungi luka, melembabkan luka dan membuang jaringan nekrosis/ slough (support autolysis) serta kontrol terhadap infeksi/terhindar dari kontaminasi, nyaman digunakan dan menurunkan rasa nyeri saat mengganti balutan.

Autolytic debridement dilakukan dengan menggunakan salep minyak buah merah (*pandanus conoideus oil*) yang dapat menciptakan suasana lembab, salep minyak buah merah tersebut memungkinkan cairan natural luka dan enzim-enzim endogen melunakkan dan mengencerkan nekrosis/slough sehingga jaringan nekrotik dapat terlepas dari dasar luka sehingga luka-luka infeksi yang mengandung jaringan nekrotik, slough, eksudat dan sebagainya akan lebih cepat membaik dan ditumbuhi jaringan sel baru (granulasi dan epitelisasi) yang akan mempercepat proses sembuhnya luka.

Alasan peneliti memilih meneliti salep minyak buah merah (*pandanus conoideus oil*) secara topical untuk penyembuhan luka, belum pernah dilakukan sebelumnya, padahal sebagian masyarakat Papua turun-temurun telah mengkonsumsi dan menggunakannya secara tradisional, dan hanya dengan

bahan minyak murni buah merah sebagai obat luka terbuka, yang dapat diolesi pada luka dan masyarakat lebih menyukai pemakaian tradisional yang bisa langsung diaplikasikan ke jaringan luka karena lebih praktis.

Penelitian lebih lanjut dengan melihat perbandingan salep minyak buah merah 15% (*pandanus conoideus oil*) yang formulasinya adalah Vaseline Album Putih 5.1 gram, Paraffin Cair 0,1 ml, Minyak Buah Merah 10 gram sehingga dalam 15 gram minyak buah merah dalam sediaan 100 gram sediaan salep. Sedangkan sebagai kontrol positif menggunakan perawatan dengan kasa NaCl 0,9%, Natrium klorida 0,9% merupakan larutan isotonik aman untuk tubuh, tidak iritan, melindungi granulasi jaringan kondisi kering, menjaga kelembaban sekitar luka dan membantu luka menjalani proses penyembuhan serta mudah didapat dan harga relatif lebih murah.

Salep Minyak Buah Merah (*pandanus conoideus oil*) memiliki efektivitas dalam proses penyembuhan luka terbuka, untuk efektivitas penggunaannya maka salep minyak buah merah perlu dikembangkan oleh penulis menjadi suatu sediaan topical dalam bentuk salep PCO 30%, dengan formulasi: Vaseline Album Putih 10.100 gram, Paraffin Cair 0.10000 ml, Minyak Buah Merah 20 gram sehingga 30 gram minyak buah merah dalam sediaan 100 gram sediaan salep. Dan salep 30% sudah dilakukan atau diuji efektivitasnya terhadap penyembuhan luka pada manusia di lapangan oleh penulis sendiri dan dkk.

Salep Minyak Buah Merah (*pandanus conoideus oil*) 15% dan 30% dipilih sebagai bentuk sediaan oleh penulis, yang digunakan dalam penelitian ini, yang mampu menjaga kelembapan kulit, tidak mengiritasi kulit dan mempunyai tampilan yang menarik dan merupakan salep pertama dari minyak

buah merah (*pandanus conoideus oil*) yang di kembangkan sebagai bahan topical/herbal yang dapat mengobati luka diabetic dengan baik.

Atas dasar itu maka perlu dikaji lebih lanjut oleh penulis dan dilakukan penelitian tentang efektivitas salep minyak buah merah (*pandanus conoideus oil*) terhadap proses penyembuhan luka sayatan pada tikus galur wistar (*rattus novergicus*) luka diabetik stadium II, dan merupakan salep pertama dari penulis tentang salep minyak buah merah yang dikembangkan dalam penelitian ini sebagai bahan topical/herbal yang dapat mengobati luka diabetik.

METODE PENELITIAN

Pemeliharaan dan perlakuan terhadap hewan coba dilaksanakan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang selama 21 hari (3 hari adaptasi, 1 hari randomisasi, 1 hari di injeksi obat aloxan 125 mg/kg/bb untuk mematikan insulin, 1 hari perlakuan/dibuat luka insisi 2 cm luka diabetik stadium II. Penelitian ini merupakan penelitian *True Eksperimental* dengan desain *Pretest – Posttest Control Group Design*. Subjek penelitian adalah tikus galur wistar (*rattus novergicus*) jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan 250-300 gram sebanyak 27 ekor yang terbagi menjadi 3 kelompok yaitu: kelompok kontrol kasa Nacl 0,9%, kelompok perlakuan I salep Minyak Buah Merah 15% dan kelompok perlakuan II salep Minyak Buah Merah 30%

Sediaan salep yang dibuat oleh peneliti sendiri dalam penelitian ini memiliki konsentrasi ekstrak salep minyak buah merah yang berbeda-beda, yaitu 15% dan 30% sebanyak 100 gram untuk 7 kali pemakaian selama 21 hari pengamatan. Formulasi salep minyak buah merah 15% . R/ Vaseline Album Putih 5,1 gram.Paraffin Cair 0,1 ml.Minyak Buah Merah 10 gram.

15 gram minyak buah merah dalam sediaan 100 gram sediaan salep. Formulasi salep salep minyak buah merah 30%.R/ Vaseline Album Putih 10,1 gram. Paraffin Cair 0,1 ml. Minyak Buah Merah 20 gram. 30 gram minyak buah merah dalam sediaan 100 gram sediaan salep. Sedangkan kasa Nacl 0,9% sebagai kontrol dari salep MBM 15% dan Salep Minyak Buah Merah 30% dalam penelitian ini.

Tikus galur wistar (*rattus novergicus*) jantan di peroleh dari Fakultas MIPA UNNES yang sebelumnya di adaptasi selama 3 hari, satu hari kemudian tikus galur wistar (*rattus novergicus*) di acak untuk menentukan kelompok kontrol kasa Nacl 0,9%, kelompok perlakuan I salep Minyak Buah Merah 15% dan kelompok perlakuan ke II salep Minyak Buah Merah 30%. Masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor tikus galur wistar (*rattus novergicus*), satu hari diinjeksi obat aloxan 125 mg/kg/bb untuk mematikan insulin, 1 hari perlakuan/dibuat luka insisi 2 cm luka diabetik stadium II, kemudian masing-masing tikus galur wistar (*rattus novergicus*) per kelompok di rawat luka nya selama 21 hari dengan menggunakan salep Minyak Buah Merah 15% dan salep MBM 30% kemudian Nacl 0,9 sebagai kontrol. Dan alat untuk mengukur proses penyembuhan luka pada ketiga kelompok menggunakan lembar observasi *Bates Jansen Wound Assesment Tools Scor*.

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian yang dilakukan mulai hari 1 sampai ke 21 dimana *pretest* dilakukan pada hari 1 dan *posttest* dilakuakan pada hari ke 7, 14 dan 21 pada penelitian ini untuk menguji hipotesis, hipotesis tersebut diuji dengan teknik antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (*One Way ANOVA*).

1. Uji *One Way ANOVA* terhadap kelompok kontrol kasa Nacl 0,9%

kelompok perlakuan pertama salep MBM 15% dan perlakuan kedua salep

MBM 30% masing-masing kelompok disajikan pada tabel 1.1 berikut:

Tabel 1.1 Uji *One Way ANOVA* *Pretest* dan *Posttest* pada kelompok kontrol kasa NaCl 0,9%, kelompok perlakuan I salep MBM 15% dan perlakuan II salep MBM 30%.

Skor Total	Kel	Mean \pm SD	P
Hari 1	Kontrol	26,44 \pm 0,88	0,888
	MBM15%	26,56 \pm 1,01	
	MBM 30%	26,67 \pm 1	
Hari 7	Kontrol	31 \pm 2,96	0,032*
	MBM 15%	29,89 \pm 1,54	
	MBM 30%	28 \pm 2,12	
Hari 14	Kontrol	27,33 \pm 1,94	0,000*
	MBM 15%	24,67 \pm 1,8	
	MBM 30%	22,11 \pm 2,09	
Hari 21	Kontrol	26,33 \pm 1,8	0,000*
	MBM 15%	20,56 \pm 1,01	
	MBM 30%	18,11 \pm 1,62	

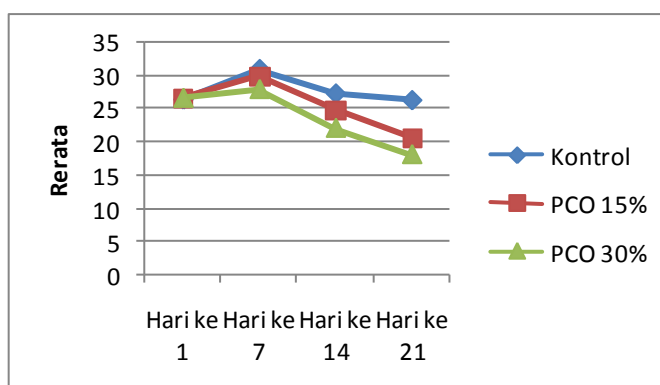


Diagram 1.1 *Pretest* dan *Posttest* pada kelompok kontrol kasa NaCl 0,9%, kelompok perlakuan I salep MBM 15% dan perlakuan II salep MBM 30% pada hari I, 7, 14 dan 21.

a. Total Skor Hari ke 1 *Pretest*.

Kontrol Kasa NaCl 0,9 %, kelompok perlakuan I Salep MBM 15% dan kelompok perlakuan ke II Salep MBM 30%. Tabel 1.1 menunjukkan hasil uji *One Way ANOVA* dimana kelompok kontrol kasa NaCl 0,9%, Mean \pm SD 26,44 \pm 0,88 perlakuan I salep MBM 15% Mean \pm SD 26,56 \pm 1,01 dan perlakuan II salep MBM 30% Mean \pm SD 26,67 \pm 1 didapatkan nilai $p > 0,05$ atau p 0,888, tidak signifikan sehingga

dapat di simpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

b. Total Skor Hari ke 7 *Posttest*.

Kontrol Kasa NaCl 0,9 %, kelompok perlakuan I Salep MBM 15% dan kelompok perlakuan ke II Salep MBM 30%. Tabel 1.1 menunjukkan hasil uji *One Way ANOVA* dimana kelompok kontrol kasa NaCl 0,9%, Mean \pm SD 31 \pm 2,96 perlakuan I salep MBM 15% Mean \pm SD 29,89 \pm 1,54 dan perlakuan II salep MBM 30% Mean \pm SD 28 \pm

- 2,12 didapatkan nilai $p < 0,05$ atau $p 0,032$, signifikan sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna.
- c. Total Skor Hari ke 14 *Posttest*.
Kontrol Kasa Nacl 0,9 %, kelompok perlakuan I Salep MBM 15% dan kelompok perlakuan ke II Salep MBM 30%. Tabel 1.1 menunjukkan hasil uji *One Way ANOVA* dimana kelompok kontrol kasa Nacl 0,9%, Mean \pm SD $27,33 \pm 1,94$ perlakuan I salep MBM 15% Mean \pm SD $24,67 \pm 1,8$ dan perlakuan II salep MBM 30% Mean \pm SD $22,11 \pm 2,09$ didapatkan nilai $p < 0,05$ atau $p 0,000$, signifikan sehingga dapat di simpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna.
- d. Total Skor Hari ke 21 *Posttest*.

Kontrol Kasa Nacl 0,9 %, kelompok perlakuan I Salep MBM 15% dan kelompok perlakuan ke II Salep MBM 30%. Tabel 1.1 menunjukkan hasil uji *One Way ANOVA* dimana kelompok kontrol kasa Nacl 0,9%, Mean \pm SD $26,33 \pm 1,8$ perlakuan I salep MBM 15% Mean \pm SD $20,56 \pm 1,01$ dan perlakuan II salep MBM 30% Mean \pm SD $18,11 \pm 1,62$ didapatkan nilai $p < 0,05$ atau $p 0,000$, signifikan sehingga dapat di simpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna.

2. Uji *Post Hoc Tukey HSD* untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang paling signifikan diantara kelompok kontrol kasa Nacl 0,9%, kelompok perlakuan I salep MBM 15% dan kelompok perlakuan II Salep MBM 30%.

Tabel 1.2 Uji *Post Hoc Tukey HSD* kelompok kontrol kasa Nacl 0,9%, kelompok perlakuan pertama salep MBM 15% dan perlakuan kedua Salep MBM 30%. Hari ke.1, 7, 14 dan 21.

Skor Total	Kel	MBM 15%	MBM 30%
Hari 7	Kontrol	0,935	0,032*
	MBM 15%	–	0,275
Hari 14	Kontrol	0,023*	0,000*
	MBM 15%	–	0,031*
Hari 21	Kontrol	0,000*	0,000*
	MBM 15%	–	0,007*

Tabel 1.2 menunjukkan hasil uji *Post Hoc Tukey HSD* pada masing-masing kelompok perlakuan menunjukkan:

Skor total hari ke 7. Kontrol kasa Nacl 0,9% terhadap salep MBM 15% didapatkan nilai $p > 0.05$ atau (0,935) tidak signifikan. Sedangkan kontrol kasa Nacl 0,9% terhadap salep MBM 30% di dapatkan nilai $p < 0,05$ atau (0,032) signifikan. Kemudian salep MBM 15% terhadap salep MBM 30% di dapatkan nilai $p > 0,05$ (0,275), tidak signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan control kasa Nacl

0,9% terhadap kelompok perlakuan ke II salep MBM 30% terdapat perbedaan yang bermakna.

Skor total hari ke 14. Kontrol kasa Nacl 0,9% terhadap salep MBM 15% di dapatkan nilai $p < 0.05$ atau (0,023) signifikan. Sedangkan kontrol kasa Nacl 0,9% terhadap salep MBM 30% di dapatkan nilai $p < 0,05$ atau (0,000) signifikan. Kemudian salep MBM 15% terhadap salep MBM 30% di dapatkan nilai $p < 0,05$ (0,031) signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan kontrol kasa Nacl 0,9%

terhadap kelompok perlakuan I MBM 15% dan kelompok perlakuan ke II salep MBM 30% terdapat perbedaan yang bermakna.

Skor total hari ke 21. Kontrol kasa NaCl 0,9% terhadap salep MBM 15% di dapatkan nilai $p < 0.05$ atau (0,000) signifikan. Sedangkan kontrol kasa NaCl 0,9% terhadap salep MBM 30% di dapatkan nilai $p < 0,05$ atau (0,000) signifikan. Kemudian salep MBM 15% terhadap salep MBM 30% di dapatkan nilai $p < 0,05$ (0,007) signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan kontrol kasa NaCl 0,9% terhadap kelompok perlakuan I MBM 15% dan kelompok perlakuan ke II salep MBM 30% terdapat perbedaan yang bermakna.

PEMBAHASAN

Analisis *Pre* dan *Post* pemberian salep minyak buah merah dengan perbandingan 15% terhadap proses penyembuhan luka sayatan pada tikus galur wistar luka diabetik stadium II dengan hasil uji statistik pada *Pre* hari ke 1 kelompok perlakuan I MBM 15% didapatkan nilai $p > 0,05$ (Tabel 1.1) Statistik bivariat, tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Sedangkan pada *Post* hari ke 7, 14 dan 21 didapatkan nilai $p < 0,05$ signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada *pre* hari ke 1. Sedangkan pada *post* hari ke 7,14 dan 21 terdapat perbedaan yang bermakna.

Hasil analisis rerata perbedaan efektifitas *pre* dan *post* hari I dan 7 pada kelompok perlakuan I salep MBM 15% menunjukkan bahwa terdapat peningkatan rerata 26,56 dan 29,89. Hal ini disebabkan karena insulin tidak dapat bekerja efektif karena terjadi resistensi insulin dalam tubuh sedangkan salep MBM 15% kandungan senyawa aktifnya relatif lebih rendah, terutama kandungan *karoten*,

betakaroten, dan *tokoferol* yang terdapat dalam salep MBM 15%.

Hasil analisis ini mendukung penelitian yang pernah dilaporkan oleh (Anonim, 1995). Faktor-faktor yang memegang peranan di dalam proses absorpsi melalui kulit antara lain adalah koefisien partisi dari pada obat, kelembaban dan suhu kulit, jenis penyakit yang terdapat pada kulit, konsentrasi bahan berkhasiat, dasar salep yang dipakai, dasar salep yang digunakan sebagai pembawa dibagi dalam 4 kelompok: dasar salep senyawa hidrokarbon, dasar salep serap, dasar salep yang dapat dicuci dengan air dan dasar salep yang dapat larut dalam air. Setiap salep obat menggunakan salah satu dasar salep tersebut.

Analisis *Pre* dan *Post* pemberian salep minyak buah merah dengan perbandingan 30% terhadap proses penyembuhan luka sayatan pada tikus galur wistar luka diabetik stadium II dengan hasil uji statistik pada *Pre* pada Kelompok perlakuan I MBM 30% didapatkan nilai $p > 0,05$. Statistik bivariat, tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Sedangkan pada *Post* hari ke 7, 14 dan 21 didapatkan nilai $p < 0,05$ signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada *pre* atau hari ke 1. Sedangkan *post* pada hari ke 7,14 dan 21 terdapat perbedaan yang bermakna.

Hasil analisis rerata perbedaan efektifitas *pre* dan *post* hari I dan 7 pada kelompok perlakuan I salep MBM 30% menunjukkan bahwa terdapat peningkatan rerata 26,67 dan 28, (Tabel 1.1). Hal ini disebabkan karena salep MBM 30% kandungan senyawa aktifnya relatif lebih tinggi, terutama kandungan *karoten*, *betakaroten*, dan *tokoferol* yang terdapat dalam salep 30%.

Hasil penelitian ini mendukung penelitian yang pernah dilaporkan oleh (Anief, 2005). Pemilihan dasar salep

tergantung pada beberapa faktor seperti khasiat yang diinginkan, sifat bahan obat yang dicampurkan, ketersediaan hayati, serta stabilitas dan ketahanan sediaan jadi. Dalam beberapa hal perlu menggunakan dasar salep yang kurang ideal untuk mendapatkan stabilitas yang diinginkan. Misalnya obat-obat yang dapat terhidrolisis, lebih stabil dalam dasar salep hidrokarbon daripada dasar salep yang mengandung air meskipun obat tersebut bekerja lebih efektif dalam dasar salep yang mengandung air.

Analisis efektifitas perbedaan skor gambaran penyembuhan luka sayatan luka pada pemberian secara topikal dengan salep minyak buah merah (*pandanus conoideus oil*) dengan perbandingan kelompok perlakuan I salep MBM 15% dan kelompok perlakuan ke II salep MBM 30%. Pada kelompok perlakuan I salep MBM 15% didapat perbedaan yang tidak signifikan pada hari ke 7 dengan hasil uji statistic $p > 0,05$ atau $p 0,275$, (Tabel 1.2) sedangkan pada hari ke 14, dan 21 didapat perbedaan yang signifikan dengan hasil uji statistic $p < 0,05$ atau $0,023$ dan $0,000$. Kemudian pada kelompok perlakuan ke II salep MBM 30% di dapat perbedaan yang signifikan pada hari ke 7, 14 dan 21 ($0,031$, $0,000$, $0,000$) (Tabel 1.2) sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan ke II salep MBM 30% pada hari ke 7, 14, dan 21 didapat perbedaan yang signifikan.

Hasil analisis rerata perbedaan skor gambaran penyembuhan luka sayatan pada pemberian secara topikal dengan salep minyak buah merah (*pandanus conoideus oil*) dengan perbandingan kelompok perlakuan I salep MBM 15% dan kelompok perlakuan ke II salep MBM 30% (Tabel 1.1) menunjukkan bahwa didapat peningkatan pada kelompok perlakuan I salep MBM 15% rerata 29,89 dan kelompok perlakuan ke II salep MBM 30% didapat rerata 28.

Hasil penelitian ini mendukung penelitian yang pernah dilaporkan oleh Limbongan dan Uhi (2005) melaporkan, buah merah berkhasiat mengobati mata rabun, gatal-gatal, luka tergores, pegal dan capek, menyuburkan rambut, mengobati kanker dan penyakit degeneratif (jantung, kolesterol, diabetes, darah tinggi), serta untuk kesehatan ternak, khususnya babi. Sutarno (2001) telah melakukan pengujian beberapa jenis tumbuhan penghasil zat pewarna alami, termasuk buah merah, dan menyimpulkan bahwa minyak buah merah dapat digunakan sebagai pewarna alami untuk warna merah kosmetik dan kuning sedikit ($1.460 \mu\text{g}/100\text{g}$ sampel), secara *invitro* dapat menghambat pertumbuhan sel kanker A 549 (Surono *et al.* 2006; Waspodo dan Nishigaki 2007). Hasil pengujian pada 110 ekor tikus putih betina (*Rattus novergicus*) menunjukkan, persentase tikus yang memperlihatkan gejala tumor menurun setelah diberi minyak buah merah (Munim *et al.* 2006).

Analisis efektifitas proses perbedaan penyembuhan luka sayatan pada tikus galur wistar luka diabetik stadium II yang dirawat dengan salep minyak buah merah dengan perbandingan 15% dan 30% dasar salep minyak buah merah pada tikus galur wistar Pada kelompok perlakuan I salep MBM 15% didapat perbedaan yang tidak signifikan pada hari ke 7 dengan hasil uji statistic $p > 0,05$ atau $p 0,275$, (Tabel 1.2) sedangkan pada hari ke 14, dan 21 didapat perbedaan yang signifikan dengan hasil uji statistik $p < 0,05$ atau $0,023$ dan $0,000$. Kemudian pada kelompok perlakuan ke II salep MBM 30% didapat perbedaan yang signifikan pada hari ke 7 ($0,031$), hari ke 14 ($0,000$) dan hari ke 21 ($0,000$) (Tabel 1.2) sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan ke II salep MBM 30% pada hari ke 7, 14, dan 21 didapat perbedaan yang signifikan.

Hasil analisis rerate perbandingan efektifitas proses penyembuhan luka sayatan pada tikus galur wistar yang dirawat dengan salep MBM dengan perbandingan 15% dan 30% (Tabel 1.1) menunjukkan bahwa didapat pada kelompok perlakuan I salep MBM 15% terdapat peningkatan rerata 29,89. 24,67 dan 20,56 kemudian kelompok perlakuan ke II salep MBM 30% didapat rerata 28, 22, 11 dan 18,11.

Hasil penelitian ini mendukung penelitian yang pernah dilaporkan oleh Hadad *et al.* (2006) menyatakan, buah merah mengandung asam lemak terutama asam oleat sekitar 30%, sehingga bermanfaat untuk meningkatkan status gizi masyarakat. Buah merah juga mengandung antioksidan yang cukup tinggi, di antaranya karotenoid dan tokoferol.

Antioksidan bermanfaat mencegah penyakit gondok, kebutaan, dan sebagai antikanker. Buah merah juga mengandung mineral Fe, Ca, dan Zn (Budi 2003). Daya tarik buah merah adalah kandungan kimianya, yaitu zat gizi penting untuk ketahanan tubuh. Oleh karena itu, tanaman ini berpotensi dikembangkan sebagai bahan baku obat degeneratif untuk mengobati penyakit HIV, di samping sebagai penunjang makanan pokok sehari-hari. Tulisan ini menginformasikan peluang pengembangan buah merah, termasuk karakteristik botani, varietas, cara budi daya, panen, pascapanen, dan kegunaannya sebagai sumber pangan, pakan, pewarna alami maupun bahan baku obat-obatan.

SIMPULAN

1. Hasil penelitian membuktikan bahwa tidak terdapat perbedaan efektifitas salep minyak buah merah 15% terhadap proses penyembuhan luka sayatan pada tikus galur wistar luka diabetik stadium II.

2. Hasil penelitian membuktikan bahwa terdapat perbedaan efektifitas salep minyak buah merah 30% terhadap proses penyembuhan luka sayatan pada tikus galur wistar luka diabetik stadium II.
3. Hasil penelitian membuktikan bahwa terdapat perbedaan skor gambaran penyembuhan luka sayatan pada tikus galur wistar pada pemberian secara topikal dengan salep PCO dengan perbandingan 15% dan 30% luka diabetik stadium II.
4. Hasil penelitian membuktikan bahwa terdapat efektifitas proses penyembuhan luka sayatan pada tikus galur wistar yang dirawat dengan salep PCO dengan perbandingan 15% dan 30% luka diabetik stadium II.

SARAN

1. Dari hasil penelitian yang dilakukan disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut dengan melakukan pengujian lebih lanjut terhadap kandungan senyawa aktif salep minyak buah merah yang berperan sebagai antibakteri.
2. Mengetahui pengukuran pH salep minyak buah merah sesuai dengan kulit atau tidak, karena akan terjadi kontak langsung dengan kulit sehingga akan mempengaruhi kondisi kulit. Serta sebagai obat topikal herbal terstandar atau fitofarmaka.
3. Mengetahui pengukuran perbedaan skor gambaran histology luka pada pemberian secara topikal dengan salep PCO 30% terhadap proses penyembuhan luka sayatan pada tikus galur wistar luka diabetik stadium II.
4. Diharapkan pada penelitian selanjutnya salep minyak buah merah bisa diterapkan terhadap manusia.
5. Pada penelitian selanjutnya diharapkan dapat melakukan luka sayatan yang berbeda (Luka Melingkar).

DAFTAR PUSTAKA

- Anief, 2005. *Ilmu Meracik Obat*. Gadjah Mada. University Press. Yogyakarta
- Anonim, 1995. *Farmakope Indonesia IV*. Departemen Kesehatan RI.
- Azwar, S. 2009. *Metodologi penelitian*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Bernard, L. (Chairman Working Group). 2007. *Clinical practice guidelines: Management of diabetic foot infections. Medicine et maladies infectieuses*. 37:14-25.
- Carville, K. 2007. *Wound Care Manual. 3rd Edition*. Western Australia: Silver Chain Foundation.
- Driver, V. R. Fabbi. M.. Lavery. L.. A.. Gibbons. G. 2010. *The costs of diabetic foot: the economic case for the limb salvage team. J Am Podiatr Med Assoc.*; 100 (5): 335-41.
- Frykberg, R.G.. Armstrong.. D.G.. Giurini. J.. Edwards. A.. Kravette. M.. Kravitz.S.. Ross. C.. Stavosky. J.. Stuck. R.. Vanore. J. 2000. *Diabetic Foot Disorders : A Clinical Practice Guideline*. Journal of Foot & Ankle Surgery. 39:S1-S60.
- Yoshitomi, H. T Nishigaki. I Surono dan M Gao. 2010. *Umur panjang Spontan hipertensi Rat – Stroke Tikus Rawan (SHR – SP) oleh Morinda citrifolia (Noni) jus buah . Cocos nucifera (Extra Virgin Coconut Oil) dan Pandanus conoideus (Buah Merah) minyak .Konferensi Internasional . Pameran dan Short Course pada Nutraceuticals dan Makanan Fungsional di Indonesia . 11-15 Oktober 2010.*
- Huang, E.S.. Basu. A.. O’Grady. M.. Capreta. J.C. 2009. *Projecting the Future Diabetes Population Size and Related Costs for the U.S. Diabetes Care*. 32: 2225-9.
- Budi, I Made. 2006. *Buah Merah*. <http://buahmerah.baliwae.com>. Diakses 20 Maret. 2015;
- Khiong, K.. Adhika. O.A. dan Chakravitha. M. 2009, *Inhibition of NF- κ B pathway as the therapeutic potential of red fruit (pandanus conoideuslam) in the treatment of inflammatory bowel disease. JKM (Jurnal Kedokteran Maranatha)* 9 (1): 69-75.
- Hatai, M. H Yoshitomi. T Nishigaki dan M Gao. 2011. *Efek Hambat dan Mekanisme Buah Merah (Pandanus conoideus) Minyak di Melanogenesis*. Jepang Farmasi Conference. Shizuoka April 2011. Pertemuan Buah Merah di Tokyo. 15 Mei 2011.
- _____ H Yoshitomi. T Nishigaki dan M Gao. 2012. *Aksi stimulasi dari tirosinase Degradasi oleh Buah Merah Oil*. Konferensi Jepang Farmasi. Maret 2012.
- Pusat Data dan Informasi Persi. 2015. *Availablerom:http://www.pdpersi.co.id/conten/m news*. Diakses pada Mei. 2015;
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2007. Laporan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas)
- Singh, N. Armstrong. D.G.. Lipsky. B.A. 2005. *Preventing foot ulcers in patients with diabetes. Jama*.293: 217-28.
- Tellechea. A.. Leal. E.. Veves. A.. Carvalho. E. 2010. *Inflammatory and Angiogenic abnormalities in Diabetic Wound Healing: Role of Neuropeptides and Therapeutic Perspectives. The Open*

- Circulation and Vascular Journal*. 3: 43-55.
- Baal, Van. J.G. 2004. *Surgical treatment of the Infected Diabetic Foot*. Clinical Infectious Diseases. 39: S 123-8.
- Wasposito, I.S.. dan Nishigaki. T.. 2007. *Novel Chemopreventive Herbal Plant Buah Merah (Pandanus conoideus) for Lung Cancers*. PATPI Conference Bandung. 17 – 18 Juli.
- Weck, M. Slesaczek. T. Paetzold. H.. Muench. D. Nanning. T. von Gagern. G. Brechow. A.. Dietrich. U.. Holfert. M.. Bornstein. S. Barthel. A.. Thomas. A. Koehler. C.. Hanefeld. M. 2013. *Structured health care for subjects with diabetic foot ulcers results in a reduction of major amputation rates*. Cardiovascular Diabetology 2013. 12: 45.
- Widatalla, A.H.. Mahadi. S.. Shower. M.A.. Elsayem. H.A.. Ahmed. M.E. 2009. *Implementation of diabetic foot ulcer classification system for research purposes to predict lower extremity amputation*. Int J Diabetes Dev Ctries. 29:1–5.