

## Efek Perlakuan Kombinatif Plasma Medis dan Ekstrak Daun Binahong Terhadap Penyembuhan Luka Fase Proliferasi Pada Mencit Diabetik

Eka Sakti Wahyuningtyas<sup>1,7,8</sup>, Nasruddin<sup>2,7,8\*</sup>, Heni Setyowati Esti Rahayu<sup>1</sup>, Heni Lutfiyati<sup>4</sup>, Isabella Meliawati Sikumbang<sup>4,7,8</sup>, Laela Hayu Nurani<sup>5,8</sup>, Arum Kartikadewi<sup>6,8</sup>, Nia Salsabila<sup>3,8</sup>, Gela Setya Ayu Putri<sup>2,8</sup>, Putri Kurniasiwati<sup>8,9</sup>, Devi Kemala Dewi<sup>4,7</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Keperawatan, Universitas Muhammadiyah Magelang, Magelang

<sup>2</sup>Program Studi Ilmu Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang

<sup>3</sup>Program Studi Analisis Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang

<sup>4</sup>Program Studi Farmasi, Universitas Muhammadiyah Magelang, Magelang

<sup>5</sup>Program Studi Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta

<sup>6</sup>Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang

<sup>7</sup>Pusat Penelitian Penyembuhan Luka Eksperimental, Universitas Muhammadiyah Magelang, Magelang

<sup>8</sup>Muhammadiyah Research Network for Plasma Medicine (M-Plasmed), Semarang

<sup>9</sup>Program Studi Analisis Kesehatan, Universitas Aisyiyah Yogyakarta, Yogyakarta

\*Email : nasruddin@unimus.ac.id

---

### Abstract

#### Keywords:

Plasma medicine;  
RONS;  
PAW;  
Natural product;  
Diabetic wound

*Plasma medicine is a relatively new and multidisciplinary study involving the study of plasma science, biomedicine, pharmacy, and other health sciences to utilizing plasma for medical therapy. Plasma is the fourth substance, after solids, liquids, and gases. Plasma can produce biological molecules of Reactive Oxygen and Nitrogen Species (RON) which, if controlled in the right dose, can be beneficial for health. This animal study examines the effect of combinative treatment of medicine plasma and binahong leaf extract on proliferation phase wound healing in a diabetic test model. The study used Balb mice 7-8 years old which were induced by STZ with acute wounds which were divided into 4 groups, namely the wound group of diabetic mice without treatment (C), the group of diabetic mice with the treatment of binahong leaf extract (B), the group of combined treatment wounds plasma jet (P) and the wound group of diabetic mice treated with a combination of plasma and, binahong leaf extract (PB). Binahong leaf extract concentration 1% in DMSO solvent. The jet type medicine plasma treatment was carried out every day from day 0 to day 6. Macroscopic observation of the wound was carried out every day from day 0 to day 7. On day 7 it appears that the size of the wound area for P is much smaller than for C, B, and PB. The size of area B and PB is relatively the same, but smaller than C. The results of this study indicate that the binahong leaf extract tends to inhibit the performance of medicine plasma in accelerating the healing of the proliferation phase.*

## 1. PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) merupakan salah satu dari masalah kesehatan utama pada masyarakat di dunia. International Diabetes Federation (IDF) tahun 2019 menyatakan, sekitar 463,0 juta orang dewasa berusia 20-79 tahun di seluruh dunia (9,3% dari semua orang dewasa dalam kelompok usia ini) menderita Diabetes Mellitus. Pada tahun 2019 Indonesia berada di urutan ketujuh yaitu 10,7 juta orang menderita Diabetes dan diprediksi akan meningkat di tahun 2030 yaitu 13,7 juta orang[1].

Salah satu komplikasi umum dari Diabetes Mellitus adalah masalah kaki diabetes, kaki diabetes yang tidak dirawat dengan baik akan mudah mengalami luka dan cepat berkembang menjadi ulkus dan gangren bila tidak dirawat dengan benar [2]. Secara global, perkiraan sekitar 15- 25% dari penyandang Diabetes Mellitus akan mengalami Diabetic Foot Ulcer selama hidupnya [3]. Di Indonesia sebanyak 85,7% penyandang Diabetes dengan neuropati memiliki resiko tinggi untuk menjadi DFU[4].

Prevalensi komplikasi Diabetes Mellitus (DFU) yang tinggi memerlukan adanya penatalaksanaan luka secara sistematis untuk mencegah perburukan dan terjadinya amputasi [5]. Adapun strategi untuk mengobati dan merawat luka diabetik selama ini masih terbatas pada penggunaan pembalut luka (wound dressing), terapi sel dan terapi oksigen. Perawatan luka Diabetik yang optimal memerlukan strategi dalam pengobatan karena luka termasuk kronis dan biaya mahal [6]. Pengembangan strategi, metode, dan teknologi terapi terkait peningkatan kualitas penyembuhan luka Diabetik sangat diperlukan guna mencegah perburukan hingga amputasi [7]. Saat ini teknologi plasma medis menawarkan solusi baru sebagai salah satu teknologi yang berpotensi dan diharapkan dapat diaplikasikan dalam proses penyembuhan luka secara optimal [8]. Plasma medis (plasma medicine) merupakan kajian ilmu pengetahuan yang relatif baru sertabersifatilmu multidisiplin dengan melibatkan kajian sains plasma, kajian sains hayati (life science), biomedik, farmasi, dan ilmu kesehatan lainnya yang memiliki tujuan dalam aplikasi

plasma sebagaipengobatan atau terapi kesehatan. Plasma medicine dalam kajian inibukan merupakan plasma darah tetapi plasma medis merupakan fase zat ke empat, setelah zat padat, cair dan gas. Plasma tersebutmerupakanionisasi gas (ionized gas) karena plasma terdapat bagian yang stabil (gas) dan bagian yang reaktif (ion, partikel energetik dan radikal)[9]. Plasmamedicine memancarkan radiasi elektromagnetik, dan mengandungmolekul gas tereksitasi, ion bermuatan positif dan negatif,elektron bebas, spesies oksigen / nitrogen reaktif netral(ROS / RNS), radikal bebas, dan fragmen molekul. Reactive Oxygen Spesies (ROS) dan Reactive Oxygen Spesies (RNS), jika dikontrol secara cermat dan dalam dosis yang tepat memiliki keefektivandalam pengobatan atau terapi kesehatan [9].

Pada penelitian sebelumnya, Nasruddin et al.(2014), telah melaporkan bahwa plasma medis tipe jet mampu mempercepat penyembuhan luka akut tipe full-thickness pada hewan uji mencit (in vivo) dengan mempromosikan inflammasi, re-epithelialisasi dan kontraksi luka [10]. Pada penelitian plasma medis salah satu fokusutama yaitu mengidentifikasi upayadan metode untuk kinerja plasma medis sehingga bekerja secara optimal dalam pengobatan atau terapi kesehatan.Diperlukan juga upaya untuk memperkecil efek samping pada penggunaan tekhnologi tersebut. Metode pengobatan yang saat ini menarik para peneliti dalam kajian plasma medis yaitumengkombinasikan plasma medis dengan senyawa fase cair (larutan atau cairan) atau pendekatan plasma activated water (PAW). PAW memiliki komposisi kimia yang berbeda dengan air dan dapat menjadi metode alternatif untuk disinfeksi mikroba[11].

Beberapa penelitian sebelumnya telah dilakukan dengan mengkombinasi plasma medis dengan cairan untuk melihat kinerja plasma medis secara optimal dalam penyembuhan luka[12][13]. Hasil dari perlakuan kombinasi plasma jet dan air dalam volume mikroliter mampu mengoptimalisaproses penyembuhan luka akut non diabetik secara cepat secara signifikan melalui fase inflammasi dan kontraksi luka dibandingkan hanya perlakuan plasma saja. Pada penelitian Wahyuningtyas

(2018) juga telah mengkaji terkait Plasma Activated Water (PAW) dengan melihat efek perlakuan kombinatif plasma medis dan larutan madu yang mengarah pada berkonsentrasi rendah yang ditopang oleh hydrocolloid dressing yang berlubang bagi penyembuhan luka pada luka akut non diabetik [13]. Penelitian Rahayu (2019) membuka wacana baru terkait pengobatan luka diabetes yaitu kombinasi plasma medis dan larutan daun sirih memiliki potensi untuk meningkatkan kinerja teknologi plasma medis tipe dalam mempercepat penyembuhan luka fase proliferasi pada luka akut diabetik [14].

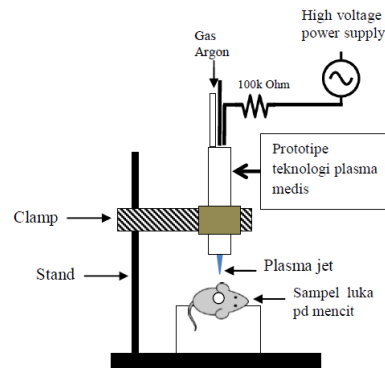
Daun Binahong merupakan potensi alam yang ada di Indonesia yang memiliki khasiat obat. Tanaman daun binahong dapat mempercepat proses penyembuhan luka dengan meningkatkan zat-zat yang dibutuhkan dalam proses regenerasi jaringan dan fase perkembangbiakan seperti saponin, alkaloid, tanin, steroid, triterpenoid, flavonoid, asam askorbat [15][16]. Dengan demikian, menjadi sebuah penelitian yang menarik dengan tujuan menguji efektivitas perlakuan kombinasi antara plasma medis dan larutan ekstrak daun Binahong untuk mempercepat penyembuhan luka diabetik sampai fase proliferasi atau granulasi. Perlakuan plasma medis tipe jet akan diberikan secara non kontak.

## 2. METODE

Prototipe plasma medis tipe jet sebagaimana dijabarkan dalam Darmawati et al [17] dan Rahayu et al [14] telah diterapkan dalam riset ini. Skema alat prototipe teknologi plasma medis tipe jet dapat dilihat pada Gambar 1.

Karakterisasi kelistrikan plasma jet dan identifikasi RONS dilakukan di Laboratorium Plasma Kanazawa University Jepang. Plasma medis tipe jet ini dibangkitkan dengan besaran tegangan listrik dari puncak ke puncak 9,58 kV, frekuensi ~ 18,32 kHz dan arus listrik 55,2 mA. Gas argon (*ultra high purity, medical grade*, Samator, Indonesia) dengan tingkat aliran 1 slm diterapkan pada riset ini. Keberadaan RONS telah teridentifikasi. Pada jarak 20 mm dari ujung nozzle, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan NO<sub>2</sub> juga teridentifikasi.

Sediaan ekstrak daun Binahong yang dipakai dalam penelitian ini 1% dalam pelarut DMSO.



Gambar 1. Skema alat prototipe teknologi plasma medis tipe jet.

Teknik dan prosedur penanganan hewan uji telah mendapatkan persetujuan kelaikan etik (*ethical clearance*) dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM), Yogyakarta, Indonesia (Nomor sertifikat 00005/04/LPPT/III/2020). Penelitian ini menggunakan 12 ekor mencit Balb c jantan dengan luka akut yang dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok luka mencit diabetik tanpa perlakuan (C), kelompok luka mencit diabetik dengan perlakuan ekstrak daun binahong (B), kelompok luka mencit diabetik dengan perlakuan plasma jet (P), dan kelompok luka mencit diabetik dengan perlakuan kombinasi plasma dan ekstrak daun binahong (PB). Perlakuan plasma medis dilakukan secara non-kontak (plasma jet tidak menyentuh luka) dengan jarak sekitar 20 mm selama 2 menit, tiap hari.

Bahan kimia Streptozotocin atau STZ digunakan untuk membuat mencit model diabetes. Mencit Balb c jantan yang akan diinduksi STZ dipuasakan selama sekitar 12 jam. Sebelum diinduksi STZ, semua mencit Balb c diukur kadar gula darahnya dengan glukometer (Easy Touch®). Dosis STZ yang diberikan 100 mg/kgBB sekali (*single dose*) yang dilarutkan dalam buffer sitrat dengan konsentrasi 0,01 M pH 4,5 secara intraperitoneal (i.p). Setelah proses induksi, hewan uji diberikan minum berupa glukosa 10 % untuk mencegah hipoglikemia [18].

Pengukuran kadar gula darah dilakukan tiga hari setelah induksi STZ. Mencit dengan kadar gula darah lebih dari 250 mg/dL dinyatakan mengalami hiperglikemia [19].

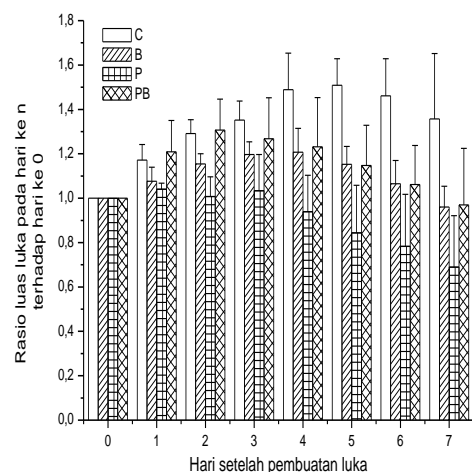
Luka akut full-thickness berbentuk lingkaran dengan diameter 4 mm dibuat dengan punch biopsy (KAI, Japan) sebagaimana dijabarkan oleh Nasruddin et al[20]. Penyembuhan luka dievaluasi secara makroskopis. Hari pembuatan luka ditetapkan sebagai hari 0 dan penyembuhan luka diobservasi tiap hari dari hari 0 sampai 7 hari setelah pembuatan luka. Sebelum observasi, lingkungan sekitar luka dibersihkan dengan larutan garam. Pemotretan gambar luka memakai kamera digital (Lumix Panasonic). Pinggiran luka ditiru (traced) pada lembaran plastik dengan spidol permanen. Hasil dari tiruan luka tersebut selama observasi dipindai dengan alat pemindai (scanner) (EPSON L220 Series) untuk ditransfer ke dalam komputer. Luas area luka dihitung menggunakan software analisis gambar Scion Image Beta 4.02 (Scion Corporation, Frederick, Maryland, USA).

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Britta et.al [21] melaporkan bahwa redox merupakan aspek atau pengatur utama dalam penyembuhan luka. Adapun proses redox tersebut melibatkan spesies aktif oksigen Baik (Reactive Oxygen Species/ROS) dan spesies aktif nitrogen (Reactive Nitrogen Species/RNS) seperti  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ , dan NO. Spesies-spesies aktif tersebut biasa disebut sebagai oxidant yang berfungsi sebagai signaling messenger dalam proses-proses biologis. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa spesies aktif tersebut memiliki peran penting bagi peristiwa-peristiwa utama selama penyembuhan luka, seperti pada proses inflammasi, re-epitelialisasi, vaskularisasi. Plasma medicine juga berkontribusi pada penyembuhan luka dengan menginduksi sel proliferasi, migrasi keratinosit dan fibroblas untuk reepitelisasi luka, serta dengan menginduksi lukayang berkaitan

dengan gen yang berhubungan dengan penyembuhan[22].

Masalah RNS dalam penyembuhan luka diabetik adalah bahwa produksi spesies aktif nitrogen pada luka diabetik, yaitu Nitric Oxide (NO), mengalami hambatan [21], sehingga proses penting dalam penyembuhan luka seperti re-epitelialisasi dan proses-proses lain sebagaimana disebutkan sebelumnya juga terhambat.



Gambar 2. Grafik penyembuhan luka sampai fase proliferasi.

Berdasarkan tabel 1 (pada lampiran) dan Gambar 2 yang merupakan hasil dari penelitian ini, tampak bahwa sampai fase proliferasi penyembuhan luka, ukuran luas luka dalam kelompok pada hari ke-7 tampak bahwa ukuran luas luka untuk P jauh lebih kecil dibanding C, B dan PB. Adapun ukuran luas B dan PB relatif sama, tapi keduanya lebih kecil dari C.. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun binahong cenderung menghambat kinerja plasma medis dalam mempercepat penyembuhan luka pada fase proliferasi.

Penyembuhan luka dalam kelompok kombinasi plasma medis-daun Binahong

justru lebih lambat dibanding kelompok yang diberi perlakuan plasma medis saja. Namun dalam desain penelitian tersebut, saat perlakuan plasma medis, jarak antara ujung nozzle reaktor plasma dan permukaan luka adalah sekitar 10 mm. Dalam jarak ini, plasma jet bersentuhan dengan permukaan luka dimana RONS menyebabkan peningkatan suhu lokal yang berpotensi merusak sel-sel normal.

Dalam penelitian ini, sebaliknya, plasma jet tidak bersentuhan dengan permukaan kulit. Jarak antara ujung nozzle reaktor plasma jet dan permukaan luka adalah sekitar 20 mm. Dalam jarak ini, RONS tetap teridentifikasi, meski relatif lebih lemah, tapi tidak merusak kulit normal [17].

Sebelumnya penelitian terkait efek plasma jet untuk penyembuhan luka diabetik telah dilakukan oleh Kuang Yao Cheng et al [23] dan Fathollah et al [24]. Kuang Yao Cheng et al menggunakan plasma jet dengan gas Argon sedangkan Fathollah et al menggunakan plasma jet dengan gas helium. Namun kedua penelitian tersebut tidak mengkombinasikan plasma jet dengan bahan alam.

Penelitian ini merupakan upaya untuk memadukan bahan alam dengan plasma medis, namun ada beberapa kekurangan, yaitu evaluasi penyembuhan luka masih terbatas pada fase proliferasi dan bersifat makroskopis. Penelitian selanjutnya perlu dilakukan sampai tahap remodeling penyembuhan luka dengan dukungan kajian secara mikroskopis-histopatologis.

#### 4. KESIMPULAN

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong cenderung menghambat kinerja plasma medis dalam mempercepat penyembuhan luka pada fase proliferasi.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset dan Teknologi Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini melalui Program Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (PDUPT) berjudul

*Pengembangan metode penyembuhan inovatif berbasis kombinasi plasma medis dan bahan alam lokal untuk luka diabetik* dengan Nasruddin sebagai Ketua Peneliti (nomor kontrak penelitian : 004/K6/KM/SP2H/PENELITIAN/2019).




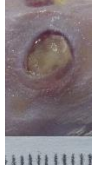
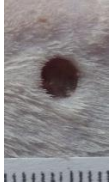
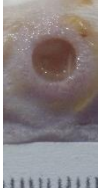

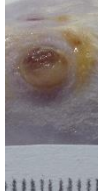

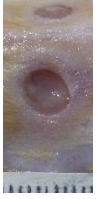
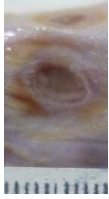
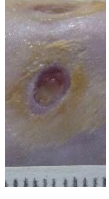



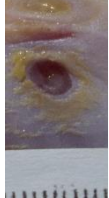
#### REFERENSI

- [1] International Diabetes Federation, *IDF Diabetes Atlas Ninth edition 2019*. 2019.
- [2] P. Zhang, J. Lu, Y. Jing, S. Tang, D. Zhu, and Y. Bi, "Global epidemiology of diabetic foot ulceration: a systematic review and meta-analysis†," *Ann. Med.*, vol. 49, no. 2, pp. 106–116, 2017.
- [3] A. J. M. Boulton *et al.*, "Comprehensive foot examination and risk assessment: A report of the task force of the foot care interest group of the American diabetes association, with endorsement by the American association of clinical endocrinologists," *Phys. Ther.*, vol. 88, no. 11, pp. 1437–1443, 2008.
- [4] N. Kusumaningrum and R. Asriningati, "Identifikasi Risiko Diabetic Foot Ulcer (Dfu) Pada Pasien Dengan Diabetes Melitus," *Jurnal Luka Indonesia*, vol. 2, no. 1, pp. 56–79, 2016.
- [5] K. Al-Rubeaan *et al.*, "Diabetic foot complications and their risk factors from a large retrospective cohort study," *PLoS One*, vol. 10, no. 5, pp. 1–17, 2015.
- [6] R. G. Frykberg and J. Banks, "Foot Ulcers : A Review," no. February, pp. 16–23, 2016.
- [7] R. MG and S. J, "Diabetic Foot Infection, Biofilm & New Management Strategy," *Diabetes Res. Open Access*, vol. 1, no. 1, pp. 7–22, 2019.
- [8] Y. Lee *et al.*, "Wound Healing Effect of Nonthermal Atmospheric Pressure Plasma Jet on a Rat Burn

- Wound Model: A Preliminary Study,” *J. Burn Care Res.*, vol. 40, no. 6, pp. 923–929, 2019.
- [9] T. Bernhardt, M. L. Semmler, M. Schäfer, S. Bekeschus, S. Emmert, and L. Boeckmann, “Plasma Medicine: Applications of Cold Atmospheric Pressure Plasma in Dermatology,” *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2019, pp. 10–13, 2019.
- [10] Nasruddin *et al.*, “Cold plasma on full-thickness cutaneous wound accelerates healing through promoting inflammation, re-epithelialization and wound contraction,” *Clin. Plasma Med.*, vol. 2, no. 1, pp. 28–35, 2014.
- [11] R. Thirumdas *et al.*, “Plasma activated water (PAW): Chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture,” *Trends in Food Science and Technology*. 2018.
- [12] H. S. E. Rahayu *et al.*, “Ethanol extract of the natural product of Daun sirih (Piper betle) leaves may impede the effectiveness of the plasma jet contact style for acute wounds,” *Clin. Plasma Med.*, vol. 15, p. 100090, 2019.
- [13] E. S. Wahyuningtyas *et al.*, “Comparative study on Manuka and Indonesian honeys to support the application of plasma jet during proliferative phase on wound healing,” *Clin. Plasma Med.*, vol. 12, pp. 1–9, 2018.
- [14] H. S. E. Rahayu *et al.*, “Ethanol extract of the natural product of Daun sirih (Piper betle) leaves may impede the effectiveness of the plasma jet contact style for acute wounds,” *Clin. Plasma Med.*, 2019.
- [15] K. Kintoko and A. Desmayanti, “The effectivity of ethanol extract of binahong leaves (*anredera cordifolia* (tenore) steen) gel in the management of diabetic wound healing in aloxan-induced rat models,” *J. Kedokt. dan Kesehat. Indones.*, 2009.
- [16] E. Sutrisno, E. Sukandar, I. Fidrianny, and I. K. Adnyana, “Wound healing in vivo and in vitro study of binahong leaves (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) and pegagan (*Centella asiatica* (L.) urban) ethanolic extract,” *Pharmacologyonline*, 2018.
- [17] S. Darmawati *et al.*, “When plasma jet is effective for chronic wound bacteria inactivation, is it also effective for wound healing?,” *Clin. Plasma Med.*, vol. 14, no. 18, p. 100085, 2019.
- [18] B. L. Furman, “Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats,” *Curr. Protoc. Pharmacol.*, 2015.
- [19] M. Radenković, M. Stojanović, and M. Prostran, “Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art,” *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, 2016.
- [20] Nasruddin *et al.*, “Evaluation the effectiveness of combinative treatment of cold plasma jet, Indonesian honey, and micro-well dressing to accelerate wound healing,” *Clin. Plasma Med.*, vol. 5–6, no. December 2016, pp. 14–25, 2017.
- [21] B. Kunkemoeller and T. R. Kyriakides, “Redox Signaling in Diabetic Wound Healing Regulates Extracellular Matrix Deposition,” *Antioxidants Redox Signal.*, vol. 27, no. 12, pp. 823–838, 2017.
- [22] A. Schmidt, S. Bekeschus, K. Wende, B. Vollmar, and T. von Woedtke, “A cold plasma jet accelerates wound healing in a murine model of full-thickness skin wounds,” *Exp. Dermatol.*, 2017.

- [23] K. Y. Cheng *et al.*, “Wound Healing in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats Using Atmospheric-Pressure Argon Plasma Jet,” *Sci. Rep.*, 2018.
- [24] S. Fathollah *et al.*, “Investigation on the effects of the atmospheric pressure plasma on wound healing in diabetic rats,” *Sci. Rep.*, 2016.

Lampiran

<b>C</b>				
<b>P</b>				
<b>B</b>				
<b>PB</b>				
<b>Hari</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>7</b>

Tabel 1. Hasil observasi makroskopis penyembuhan luka