Kombinasi Cold Plasma dengan Madu Sebagai Metode Penyembuhan Luka Diabetes Mellitus

Defi Nurul Hayati [1)], Indah Lia Listyani [2)], Nia Salsabila[3)], Arya Iswara [4)] ,Nasruddin [5)]
[1,2,3,4,5] DIV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Semarang
email : definurulhayati@gmail.com

Kata kunci:
Kata Kunci : Bakteri Ulkus Diabetes Mellitus, Cold Plasma, Madu, Daya Hambat

Abstrak

Latar belakang: Penderita ulkus diabetik di Indonesia semakin meningkat terutama di kota besar dan memerlukan biaya yang tinggi untuk terapi. Untuk itu, diperlukan solusi alternatif dalam penyembuhan ulkus diabetik. Infeksi bakteri pada ulkus DM disebabkan oleh bakteri Gram-positif Staphylococcus aureus dan bakteri Gram-negatif Pseudomonas aeruginosa. Pengobatan luka biasanya penderita DM menggunakan antibiotik. Namun penggunaan antibiotik dalam waktu yang lama dapat mengakibatkan resistensi. Solusi alternatif dibutuhkan dalam penyembuhan ulkus diabetik yaitu dengan menggunakan kombinasi Cold Plasma dengan madu.
Tujuan: *penelitian ini untuk mengetahui potensi kombinasi cold plasma dengan madu sebagai antibakteri pada ulkus diabetik.*
Metode: *Pada penelitian ini menggunakan sample madu hutan dan madu ternak yang dilakukan pengenceran sebanyak 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran yang kemudian dilakukan penembakan dengan Cold plasma pada jarak 10 mm dengan waktu 3 menit. Uji aktifitas antibakteri dilakukan dengan melihat zona hambat yang terbentuk.*
Hasil*: pengujian kombinasi cold plasma dengan madu hutan konsentrasi terbaik adalah 100% terhadap bakteri Staphylococcus aureus dengan zona hambat 12,75 mm dan 8,75 mm terhadap Pseudomonas aeroginosa sedangkan konsentrasi terbaik dari kombinasi cold plasma dengan madu ternak adalah 80% terhadap Staphylococcus aureus dengan zona hambat 20,5 mm dan 13 mm terhadap Pseudomonas aeroginosa.*

1. PENDAHULUAN

Penderita Diabetes Mellitus (DM) yang mengalami luka terbuka pada permukaan kulit disertai kematian jaringan setempat dapat memicu timbulnya ulserasi (Armstrong *et al*,2013)[i]. Luka pada penderita DM dapat terjadi karena komplikasi dari DM yang tidak tertangani yaitu adanya gangguan mikrovaskuler berupa neuropati, nefropati, dan retinopati (Chin*et al.,* 2009)[ii]. Infeksi bakteri dapat memperlambat penyembuhan, menyebabkan deformitas dan kematian. Hasil penelitian yang dilakukan (Sutjahjo 2012), juga menemukan bakteri yang menyebabkan infeksi pada ulkus diabetika yaitu *Pseudomonas aureginosa, Streptococcus, P.mirabilis, Staphylococcus, Escherichia coli dan Klebsiella pneumoniae.*

Oleh sebab itu, pemilihan antibiotik pada infeksi ulkus diabetika harus berdasarkan pada hasil kultur bakteri yang dilanjutkan dengan tes resistensi bakteri terhadap antibiotik. Data

yang diperoleh dari hasil kultur dan resistensi dapat dijadikan sebagai dasar dilakukan terapi empiris. Dengan demikian penggunaan antibiotik empiris yang tepat dapat diberikan untuk menghindari terjadinya kompikasi yang lebih luas dan perawatan yang lama (Akbar *et al*., 2014)[iii].

Madu sebagai ekspektorandan pembersih luka pada kulit maupun bisul terdapat dua jenis madu monoflora yang disebut madu ternak, karena madu jenis ini pada umumnya berasal dari nektar beberapa jenis tumbuhan bunga.Madu kedua yaitu madu poliflora atau madu liar, merupakan madu yang berasal dari nektar berbagai jenis bunga.Daya antibakteri madu disebabkan oleh karena madu mengandung flavonoid dan memiliki mekanisme antibakteri yang terdiri dari tekanan osmosis madu, keasaman, dan adanya senyawa inhibine (Nyimas Farisa Nadhilla,2014). Unsur potassium (kalium), yaitu unsur yang mencegah kelembaban, yang merupakan unsur terpenting untuk pertumbuhan bakteri (efek inhibisi). Madu memiliki zat antibiotik seperti interferon yang anti-virus dan inhibin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Ri*et al.*,2012)[iv]. Secara konseptual, aspek medis dari plasma adalah terkait kemampuan plasma untuk memproduksi molekul biologis, yaitu Reactive Oxygen and Nitrogen Species (RONS). Jika dikontrol secara cermat dan dalam dosis yang tepat, RONS dapat berkhasiat untuk terapi kesehatan baik secara fisiologis maupun patofisiologis.

Kajian terbaru sebagaimana dilaporkan oleh Weltmann et al menunjukkan bahwa mekanisme kerja plasma medis dalam mempengaruhi fungsi biologis sel didasarkan pada dua prinsip utama, yaitu : (1) Bahwa efek biologis plasma secara signifikan dipengaruhi lingkungan cairan sel; (2) Bahwa RONS yang dibangkitkan atau ditransfer ke dalam fase cair memainkan peran utama terhadap respon biologis yang dipengaruhi plasma.

Kajian terbaru sebagaimana dilaporkan oleh (Weltmann *et al.*,2017) menunjukkan bahwa mekanisme kerja plasma medis dalam mempengaruhi fungsi biologis sel didasarkan pada dua prinsip utama, yaitu (1) Bahwa efek biologis plasma secara signifikan dipengaruhi lingkungan cairan sel (2) Bahwa *Reactive Oxygen and Nitrogen Species* (RONS) yang dibangkitkan atau ditransfer ke dalam fase cair memainkan peran utama terhadap respon biologis yang dipengaruhi plasma.

Salah satu arahan dalam penelitian plasma media adalah mencari cara atau metode guna mengoptimalisasi kinerja plasma medis sebagai terapi kesehatan, sekaligus meminimalisir efek sampingnya. Salah satu pendekatan yang kini banyak menarik perhatian peneliti plasma medis adalah dengan menggabungkan plasma medis dengan senyawa dalam fase cair (larutan atau cairan) atau yang dikenal dengan pendekatan *plasma activated water* (PAW[v]). Lebih lanjut Jablonowski et al., (2010) menegaskan bahwa konsep tentang interaksi plasma-cairan (*plasma-liquid interaction*) merupakan faktor penentu bagi upaya penerapan plasma di bidang medis .

Nasruddin *et al.*,(2017) juga telah mengkaji tentang efek perlakuan kombinatif plasma medis dan larutan madu berkonsentrasi rendah yang ditopang oleh pembalut berlubang tunggal (*microwell dressing*) bagi penyembuhan luka namun hasilnya belum optimal .

Tujuan dari penelitian ini adalah Mengetahui efektivitas cold plasma-madu dalam menghambat bakteri penyebab infeksi luka ulkus diabetikum serta mengetahui komposisi cold plasma-madu yang paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri pada luka ulkus diabetikum. Urgensi penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat bakteri paling optimal pada media yang diberi perlakuan cold plasma dengan madu .

Melalui kombinasi antaraplasma medis dengan madu maka hal ini akan membuka kemungkinan baru dalam hal mengoptimalisasi efektifitas plasma medis bagi perawatan luka. Interaksi antara *Reactive Oxygen and Nitrogen Species* (RONS) plasma dan senyawa madu yang berpotensi meningkatkan kadar RONS dan *hydrogen peroxide* dalam madu yang jika itu berinteraksi dengan luka, sehingga potensial untuk mempercepat penyembuhan luka[vi].

2. METODE

Jenis penelitian ini bersifat eksperimen. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi dan laboratorium Plasma Medicine Universitas Muhammadiyah Semarang. Menggunakan sample kultur murni bakteri *Staphylococcus aureus* dan

Pseudomonas aeroginosa. Dengan Populasi pada penelitian ini adalah madu hutan Nusa Tenggara Barat (NTB) dan madu ternak kapuk Batang, Jawa Tengah. Sampel pada penelitian ini adalah madu dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%. Uji sensitivitas kombinasi cold plasma dengan madu dan antibiotik dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar (disc diffusion) dengan media MHA (mueller hinton agar) sedangkan penentuan diameter zona hambat mengacu pada Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI,2013). Objek pengamatan dari penelitian ini adalah zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus dan *Pseudomonas aeroginosa*.

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara mengambil biakan murni bakteri dari stok kultur murni dan dimasukan kedalam tabung reaksi yang berisi *Brain Heart Infusion* kemudian dikocok hingga homogen, inkubasi pada suhu 37˚C selama 3 jam, suspensi diatas ditambahkan dengan NaCl 0,9 % hingga kekeruhannya sama dengan Standar Mac Farland 0,5. Bakteri yang sudah dikultur diatas media *Mueller Hinton Agar* dengan ketebalan 0,5 cm dan diamkan selama 10 menit kemudian pembuatan empat sumuran pada satu cawan petri.

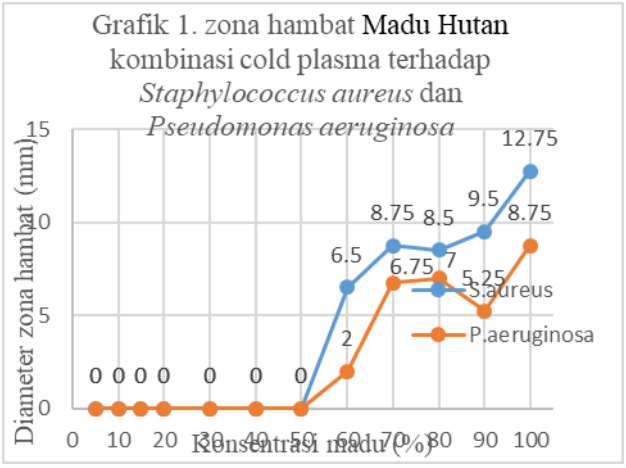
Perlakuaan cold plasma dilakukan dengan cara plasma diletakkan miring diatas media dengan melakukan pijaran selama 3 menit dengan jarak 10 mm. Inkubasi selama 18 jam dengan suhu 37°C. Data yang didapat dari hasil penelitian berupa luas zona hambat madu terhadap pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus dan *Pseudomonas aeroginosa* dianalisis dengan variabel perbedaan antara perlakuan satu dengan perlakuann lainnya secara statistik.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah dilakukan uji daya hambat kombinasi cold plasma dengan madu hutan NTB dan madu ternak kapuk terhadap pertumbuhan bakteri Gram Positif Staphylococcus aureus dan bakteri Gram Negatif Pseudomonas aeroginosa diperoleh hasil bahwa pada konsentrasi 60%, 70%, 80%, 90% dan 100% terbentuk zona hambat (zona jernih) di sekitar disk. Zona hambat yang terbentuk diukur dengan satuan mm, seperti yang terdapat pada tabel di bawah ini :

Tabel 1. Diameter zona hambat madu hutan NTB terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus dan Pseudomonas aeroginosa*

	N	Min	Max	Mean	SD
Zona Hambat Staphylococcus	24	.00	12.75	3.8333	4.93173
Zona Hambat Pseudomonas	24	.00	8.75	2.4792	3.42361
Valid N (listwise)	24				

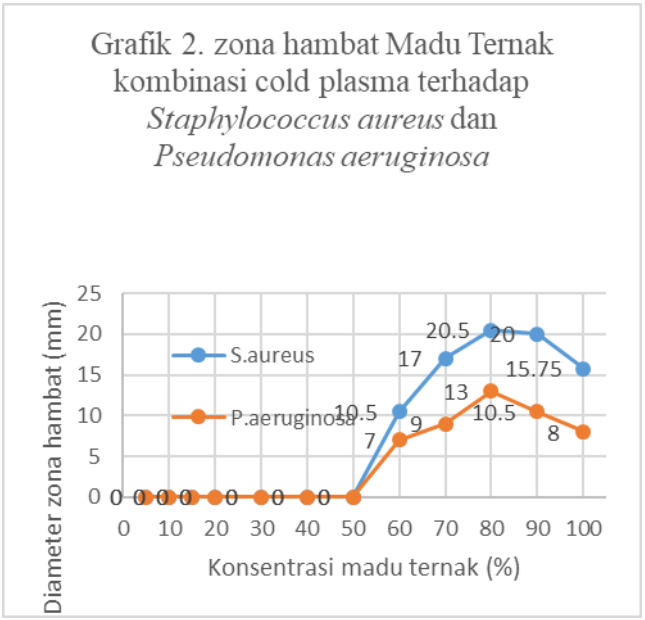


Madu hutan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* mulai konsentrasi 60% sampai dengan 100% dengan zona hambat 6,5 mm sampai 12 mm,75 mm dan menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeroginosa* mulai konsentrasi 60% sampai dengan 100% dengan zona hambat 2,00 mm sampai 8,75 mm.

Sedangkan pada konsentrasi 5% sampai 50% tidak terbentuk zona hambat sehingga diameter zona hambat yang terbentuk 0,00 mm. Konsentrasi madu hutan yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 100% dengan diameter zona hambat 20,5 mm dan efektif terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeroginosa* pada konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat 8,75 mm.

Tabel 2. Diameter zona hambat madu ternak kapuk terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan Pseudomonas aeroginosa.

	N	Min	Max	Mean	SD
Zona Hambat Staphylococcus	24	.00	20.50	5.4063	7.25311
Zona Hambat Pseudomonas	24	.00	13.00	3.2188	4.31020
Valid N (listwise)	24				



Madu ternak kapuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* mulai konsentrasi 60% sampai dengan 100% dengan zona hambat 10,5 mm sampai 15,75 mm dan menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeroginosa* mulai konsentrasi 60% sampai dengan 100% dengan zona hambat 7,0 mm sampai 8,0 mm. Sedangkan pada konsentrasi 5% sampai 50% tidak terbentuk zona hambat sehingga diameter zona hambat yang terbentuk 0,00 mm. Konsentrasi madu ternak kapuk yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 80% dengan diameter zona hambat 20,5 mm dan efektif terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeroginosa* pada konsentrasi 80% dengan diameter zona hambat 10,5 mm.

Perbandingan zona hambat pada kontrol positif menggunakan antibiotik gentamicin sebesar 10 mm dan vancomycin sebesar 12,0 mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan zona hambat antibiotik amikasin sebesar 5,5 untuk kontrol positif bakteri *Pseudomonas aeroginosa*. Hal ini membuktikan bahwa kombinasi cold plasma dengan madu mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Mekanisme kerja plasma medis

adalah menggabungkan plasma medis dengan senyawa pada fase cair berupa madu. Mekanisme kerja plasma medis dalam mempengaruhi fungsi biologis sel didasarkan pada dua prinsip utama, yaitu (1) Bahwa efek biologis plasma secara signifikan dipengaruhi lingkungan cairan sel (2) Bahwa *Reactive Oxygen and Nitrogen Species* (RONS) yang dibangkitkan atau ditransfer ke dalam fase cair memainkan peran utama terhadap respon biologis yang dipengaruhi plasma.

Kemampuan madu menghambat pertumbuhan bakteri disebabkan karena adanya enzim glukosa oksidase yang terdapat pada madu. Enzim glukosa oksidase ini dapat meningkatkan kemampuan antibakteri dengan cara merubah glukosa yang ada pada madu menjadi asam glikonat dan hydrogen peroksida. Adapun mekanisme kerja hidrogen peroksida adalah dengan mendenaturasi protein dan menghambat sintesis atau fungsi dari asam nukleat bakteri dengan adanya kerusakan pada dinding sel bakteri dan gangguan pada sintesis asam nukleat, maka pertumbuhan bakteri akan terhambat. Diantara sistem antibakteri yang terdapat dalam madu, diduga hidrogen peroksida (senyawa inhibine) memiliki peranan yang lebih banyak dibanding yang lainnya. madu yang lebih tinggi dikaitkan dengan konsentrasi hidrogen peroksida yang lebih tinggi. Sensitivitas dari hydrogen peroksida tersebut berbeda pada tiap madu tergantung dari banyaknya jenis tanaman yang dihisap oleh lebah madu (monoflora atau multiflora).[vii]

Umumnya kadar gula madu yang tinggi mampu menghambat pertumbuhan dan perkembangan dari bakteri, dikarenakan terjadi tekanan osmosis (pergerakan air dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi). Interaksi bahwa efek biologis plasma secara signifikan dipengaruhi lingkungan cairan sel serta RONS yang dibangkitkan atau ditransfer ke dalam fase cair memainkan peran utama terhadap respon biologis yang dipengaruhi plasma[viii].

4. KESIMPULAN

Kombinasi cold plasma dengan madu memiliki kemampuan sebagai antibakteri terhadap bakteri-bakteri patogen diantaranya *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi madu hutan (NTB) yang efektif menghambat adalah konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat 12,75 mm dan bakteri *Pseudomonas aeroginosa* pada konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat 8,75 mm. Konsentrasi madu ternak kapuk yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah Konsentrasi 80% dengan diameter zona hambat 20,5 mm dan bakteri *Pseudomonas aeroginosa* dengan diameter zona hambat 10,5 mm . Kemampuan antibakteri madu ini disebabkan karena adanya *Reactive Oksigen and Nitrogen Species* (RONS) dari cold plasma dengan osmolaritas madu, keasaman (gluconic acid), dan senyawa inhibine (hidrogen peroksida). Namun, kemampuan antibakteri tiap-tiap madu berbeda tergantung pada letak geografis dan bunga sebagai sumber nektar lebah madunya. Penelitian ini lebih lanjut juga berpeluang digunakan sebagai metode alternatif dalam penyembuhan luka Diabetes Mellitus

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih atas dukungan finansial untuk melaksanakan penelitian ini yang diberikan melalui hibah PKM (Program Kreativitas Mahasiswa) tahun 2018 oleh Kemenristek Dikti.

REFERENSI

[1] Citron, M.D., E.J.C.V. Goldstein, Merriam CV, Lipsky, BA and A.M.Abamson.2007.Bacteriology of moderat-to-severe diabetic foot infection and in vitro activity of antimikrobial agents. *Journal of Clinical Microbiology*.45(9):2819-2828

[ii] Hastuti, T.R.2008. Faktor-faktor risiko ulkus diabetika pada penderita diabetes mellitus. [Tesis]Universitas Diponogoro,Semarang

[iii] Akbar ., G Tiara, J. Karimi, dan D. Anggraini, 2014. Pola bakteri resistensi antibiotik pada ulkus diabetika. Grade II di RSUD Arifin Achmad.JOM.1 (2): 1-15.

[iv] Apriliani D.,Gusnedi,Darvina Y. 2013. 'Studi Tentang Nilai Viskositas Madu Hutan dari Beberapa Daerah di Sumatera Barat untuk Mengetahui Kualitas Madu',*Pillar Of Physics.*Vol. 2 . 91-98.

[v] ltmann, K.D Th. Woedtke,Plasma medicine- current state of research and medical application, Plasma Physc, Control Pusion. 59 (2017) 014031-014042.

[vi] Nasruddin, Y. Nakajima, K. Mukai, et al, Cold plasma on full-thickness cutaneous wound accelerates healing through promoting inflammation, reepithelialization and wound contraction, Clinical Plasma Medicine. 2014; 2, 28–35.

[vii] Cutting, K.F and George, N.M. 2007. Antibakterial honey: in vitro activity against clinical isolates of MRSA,VRE, and other Multiresistent Gram-negative, Wounds – ISSN;19;231-236

[viii] Molan P.C 1992. The Antibacterial activity of honey. Bee World;73:5-28.