



Efektivitas Perlakuan Irisan Daun Lidah Buaya yang Teraktivasi Plasma Jet untuk Mempercepat Penyembuhan Luka Akut Fase Proliferasi

Effectiveness of the Treatment of Plasma Jet Activated Aloe Vera Leaves to Accelerate Acute Wound Proliferation Phase Recovery

Nasruddin^{1,6,7*}, Heni Setyowati Esti Rahayu^{2,7}, Eka Sakti Wahyuningtyas^{2,6,7}, Heni Lutfiyati³, Isabella Meliawati Sikumbang^{3,6,7}, Laela Hayu Nurani^{4,7}, Afiana Rohmani⁵, Arya Iswara^{1,7}, Nia Salsabila^{1,7}, Gela Setya Ayu Putri^{1,7}

¹Program Studi Analisis Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang

²Program Studi Keperawatan, Universitas Muhammadiyah Magelang, Magelang

³Program Studi Farmasi, Universitas Muhammadiyah Magelang, Magelang

⁴Program Studi Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta

⁵Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang

⁶Pusat Penelitian Penyembuhan Luka Eksperimental, Universitas Muhammadiyah Magelang, Magelang

⁷Muhammadiyah Research Network for Plasma Medicine (M-Plasmed), Semarang

Corresponding author: nasruddin@unimus.ac.id

Riwayat Artikel: Dikirim; Diterima; Diterbitkan

Abstrak

Investigasi dilakukan untuk menentukan efek irisan lidah buaya yang diaktivasi plasma pada fase proliferasi penyembuhan luka pada model hewan kecil meniru pengaturan klinis. Jet plasma atmosfer yang menggunakan gas argon tingkat medis sebagai gas pembawa dikembangkan. Tikus eksperimental Balb c, jantan, usia 7-8 minggu, diklasifikasikan menjadi 4 kelompok, yaitu, Kontrol (C), Irisan lidah buaya saja (LB), Irisan lidah buaya yang diaktivasi dengan plasma dengan jarak 10 mm (LBVP-10) dan Plasma slice Aloe vera diaktifkan dengan jarak 20 mm (LBVP-20). Irisan lidah buaya dengan ketebalan sekitar 2 mm disiapkan. Mereka dirawat dengan jet plasma atmosferik dengan jarak 10 mm dan 20 mm selama 2 menit sebelum aplikasi mereka. Evaluasi visual luka dilakukan selama 8 hari. Pengurangan luka dihitung berdasarkan pengukuran area luka yang didukung oleh perangkat lunak komputer Scion. Penyelidikan ini menunjukkan bahwa ukuran area luka pada kelompok yang mengandung lidah buaya umumnya lebih rendah dari pada kelompok kontrol. Investigasi ini juga menunjukkan bahwa selama fase proliferasi, ukuran luka pada LBVP-20 lebih rendah dari pada LBVP-10. Pada hari 4-7 sementara di LBVP-20 sedikit lebih rendah dari pada di LB, bahwa di LBVP-10 lebih tinggi daripada di LBVP. LBVP-20 mungkin memiliki kemampuan untuk mempercepat penyembuhan luka, sementara LBVP-10 mungkin memiliki kemampuan untuk menghambatnya. Disimpulkan bahwa karakteristik yang berbeda dari irisan lidah buaya yang diaktifkan plasma dapat menyebabkan efek yang berbeda pada luka.

Kata kunci: Obat plasma, ROS, RNS, PAW, Lidah buaya; luka

Abstract

An investigation was carried out to determine the effect of plasma activated Aloe vera slice on for proliferative phase of wound healing in small animal model mimicking a clinical setting. An atmospheric plasma jet using medical grade argon gas as a carrier gas was developed. Experimental mice Balb c, male, age 7-8 weeks, were classified into 4 groups, namely, Control (C), Aloe vera slice alone (LB), Plasma activated Aloe vera slice with distance 10 mm (LBVP-10) and Plasma activated Aloe vera slice with distance 20 mm (LBVP-20). Aloe vera slices with thickness about 2 mm were prepared. They were treated by atmospheric plasma jet with distance 10 mm and 20 mm during 2 minutes before their applications. Visual evaluations of wounds were conducted for 8 days. Wound reduction was calculated based on wound area measurement supported by computer software Scion. This investigation showed that wound area sizes in groups containing Aloe vera were generally lower than that in control group. This investigation was also showed that during proliferative phase, wound size in



LBVP-20 was lower than that in LBVP-10. On days 4-7 whilst that in LBVP-20 was slightly lower than that in LB, that in LBVP-10 was higher than that in LBVP. LBVP-20 may have ability to accelerate wound healing, while LBVP-10 may have ability to impede it. It was concluded that different characteristic of plasma activated Aloe vera slice may cause different effect on wound.

Keywords: *Plasma medicine; ROS; RNS; PAW; Aloe vera*

1. PENDAHULUAN

Plasma medis (*plasma medicine*) adalah kajian ilmiah yang relatif baru dan bersifat lintas disiplin ilmu dengan melibatkan kajian fisika plasma, ilmu hayati, biomedik, farmasi, dan ilmu kesehatan lainnya yang bertujuan untuk menerapkan plasma di bidang terapi kesehatan manusia. Plasma yang dimaksud dalam hal ini bukan adalah plasma sebagai fase zat ke empat, setelah zat padat, cair dan gas. Plasma ini dikenal dengan istilah gas terionisasi (ionized gas) karena di dalam fase plasma terdapat bagian yang stabil (gas) dan bagian yang reaktif (ion, partikel energetik dan radikal) [1]. Secara teoritik, manfaat plasma secara medis adalah terkait kemampuan plasma untuk memproduksi molekul biologis, yaitu *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) dan *Reactive Oxygen Spesies* (RNS) dimana jika dikontrol secara baik dan dalam dosis yang tepat dapat berkhasiat bagi kesehatan [2,3,4].

Plasma medis (*plasma medicine*) adalah kajian ilmiah yang relatif baru dan bersifat lintas disiplin ilmu dengan melibatkan kajian fisika plasma, ilmu hayati, biomedik, farmasi, dan ilmu kesehatan lainnya yang bertujuan untuk menerapkan plasma di bidang terapi kesehatan manusia. Plasma yang dimaksud dalam hal ini bukan adalah plasma sebagai fase zat ke empat, setelah zat padat, cair dan gas. Plasma ini dikenal dengan istilah gas terionisasi (ionized gas) karena di dalam fase plasma terdapat bagian yang stabil (gas) dan bagian yang reaktif (ion, partikel energetik dan radikal) [1]. Secara teoritik, manfaat plasma secara medis adalah terkait kemampuan plasma untuk memproduksi molekul biologis, yaitu *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) dan *Reactive Oxygen Spesies* (RNS) dimana jika dikontrol secara baik dan dalam dosis yang tepat dapat berkhasiat bagi kesehatan [2,3,4].

Berdasarkan penelitian sebelumnya, telah dilaporkan bahwa plasma medis tipe jet bertekanan atmosfer dapat mempercepat penyembuhan luka akut pada hewan coba mencit Balb c dengan mempromosikan inflammasi, re-epithelialisasi dan kontraksi luka [5]. Salah satu arahan dalam penelitian plasma medis adalah mengembangkan cara untuk meningkatkan performa plasma medis sebagai terapi kesehatan, sekaligus mengurangi dampak negatif yang ditimbulkannya. Salah satu cara yang kini banyak menarik perhatian peneliti plasma medis adalah dengan mengkombinasikan plasma medis dengan senyawa dalam fase cair (larutan atau cairan) atau yang dikenal dengan pendekatan *plasma activated water* (PAW). Lebih lanjut, Jablonowski et al. [6] menegaskan bahwa konsep tentang interaksi plasma-cairan (*plasma-liquid interaction*) merupakan faktor penentu bagi upaya penerapan plasma di bidang medis.

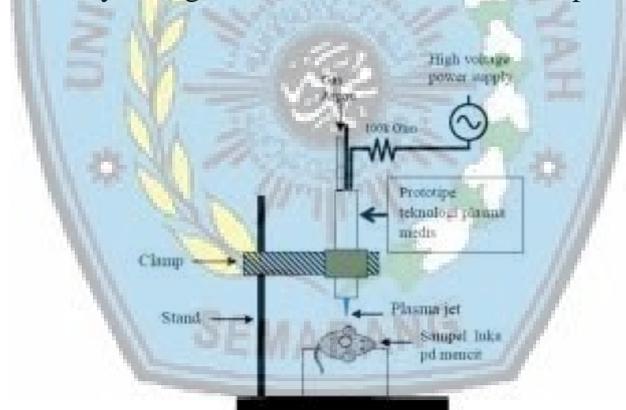
Penelitian terkait upaya memadukan plasma medis dan cairan untuk mengoptimasi kinerja plasma medis untuk penyembuhan luka sebelumnya telah dilaporkan [7, 8]. Kombinasi perlakuan plasma jet dan air dalam volume mikroliter telah dilaporkan mampu mempercepat penyembuhan luka akut dengan cara mempromosikan inflammasi dan kontraksi luka secara signifikan dibandingkan hanya perlakuan plasma saja. Adapun efek perlakuan kombinitif plasma medis dan larutan madu berkonsentrasi rendah yang ditopang oleh pembalut berlubang (microwell dressing) bagi penyembuhan luka juga telah dilaporkan [8]. Sementara itu telah juga dikaji perbandingan tentang potensi madu Manuka dan madu Indonesia guna mengoptimasi efektivitas plasma medis dalam mempercepat penyembuhan luka[9].

Indonesia kaya potensi alam yang berkhasiat obat, di antaranya adalah tanaman lidah buaya atau Aloe vera. Lidah buaya mengandung aloin dan aloesin yang memiliki efek inflammasi [10]. Upaya memadukan plasma medis dengan lidah buaya tentunya berpotensi membuka kemungkinan baru dalam hal bagaimana mengoptimasi efektifitas plasma medis bagi perawatan luka. Masalahnya, hingga saat ini belum ada laporan ilmiah yang mengkaji metode tersebut. Dengan demikian, penelitian terkait topik tersebut menjadi penting dan strategis. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas perlakuan irisan daun lidah buaya yang teraktivasi plasma medis untuk mempercepat penyembuhan luka sampai fase proliferasi atau granulasi.

2. METODE

Prototipe plasma medis tipe jet sebagaimana dipakai dalam Darmawati et al [11] dan Rahayu et al [12] telah diterapkan dalam eksperimen 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, arus listrik 55,2 mA dan frekuensi ~ 18,32 kHz sebagaimana ditunjukkan dalam Gambar 2. Gas argon (*ultra high purity, medical grade*, Samator, Indonesia) dengan tingkat aliran 1 slm diterapkan pada riset ini. Berdasarkan Gambar 3, tampak bahwa RONS teridentifikasi. Sedang Gambar 4 menunjukkan bahwa pada jarak 20 mm dari ujung nozzle, H₂O₂ dan NO₂ juga teridentifikasi. Adapun data terkait efek plasma jet terhadap perubahan suhu kulit normal ditunjukkan pada Gambar 5.

Irisan daun lidah buaya dengan ketebalan sekitar 2 mm dipakai dalam penelitian ini.



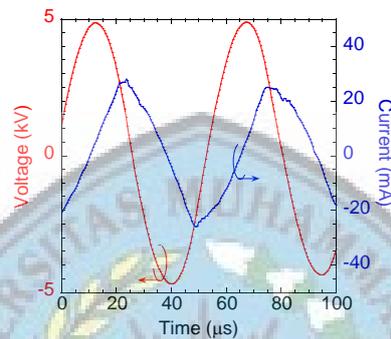
Gambar 1. Skema alat prototipe teknologi plasma medis tipe jet.

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. Penelitian ini menggunakan 12 ekor mencit Balb c jantan dengan luka akut yang dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok luka normal tanpa perlakuan (C), kelompok luka dengan perlakuan lidah buaya saja (LB), kelompok luka dengan perlakuan lidah buaya yang diaktivasi plasma jet dengan jarak 10 mm (LBVP-10) dan kelompok luka dengan perlakuan lidah buaya yang diaktivasi plasma jet dengan jarak 20 mm (LBVP-20). Perlakuan plasma jet diarahkan pada permukaan irisan lidah buaya selama 2 menit. Adapun konsentrasi Hydrogen Peroksida (H₂O₂) dan Nitrat (NO₂) dihitung dengan metode berikut ini.

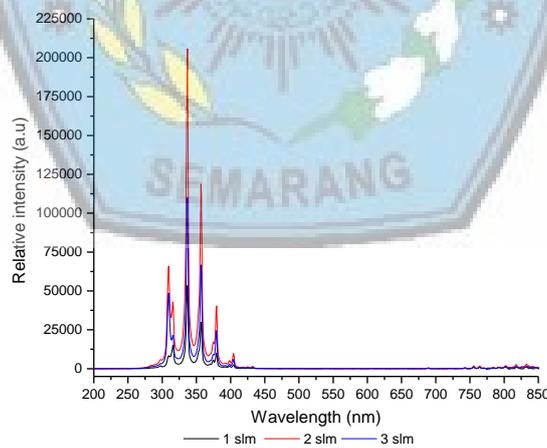
Bahan dari plastik yang menyerupai cincin diletakkan pada permukaan irisan lidah buaya, lalu area dalam cincin tersebut diberi perlakuan plasma jet dengan jarak 5, 10 dan 20 mm selama 2 menit. Aquades 3 ml diteteskan ke dalam area tersebut, lalu 2 ml diambil

darinya untuk dihitung konsentrasi Hydrogen Peroksida (H_2O_2) dan Nitrat (NO_2) secara kimiawi-enzimatik sebagaimana dipakai pada penelitian sebelumnya [8,9].

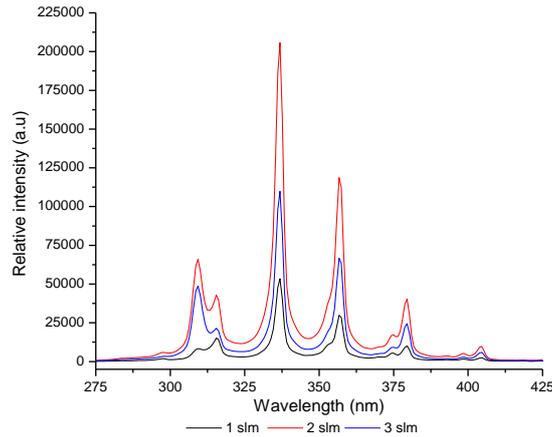
Luka akut full-thickness berbentuk lingkaran dengan diameter 4 mm dibuat dengan punch biopsy (KAI, Japan) sebagaimana dijabarkan oleh Nasruddin et al. [8,9]. Penyembuhan luka dievaluasi secara makroskopis. Hari pembuatan luka ditetapkan sebagai hari 0 dan penyembuhan luka diobservasi tiap hari dari hari 0 sampai 7 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).



Gambar 2. Bentuk gelombang arus dan tegangan listrik pada tingkat aliran gas argon 1 slm. [11].

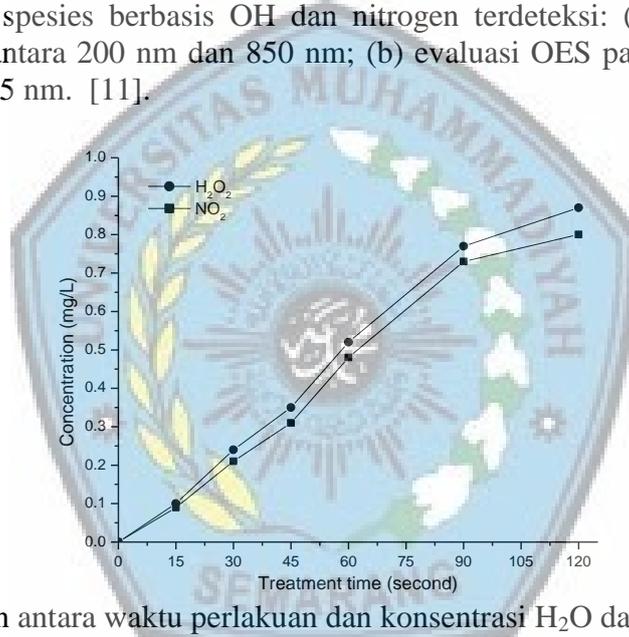


a

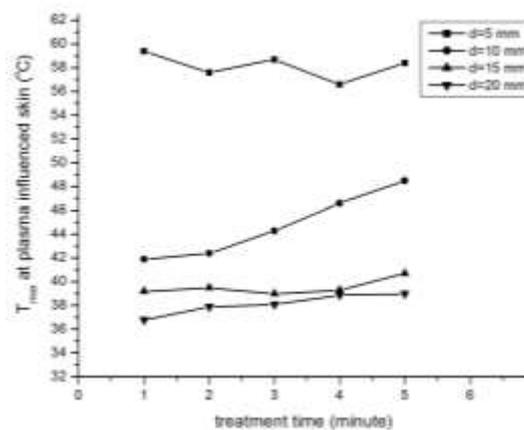


b

Gambar 3. Evaluasi Optical emission spectroscopy (OES) dari atmosfer sekitar plasma jet 10 nm dibawah nozzle reaktor plasma jet (tanpa mencit) dengan berbagai tingkat aliran gas (1, 2 and 3 slm), Reaktif spesies berbasis OH dan nitrogen terdeteksi: (a) evaluasi OES pada panjang gelombang antara 200 nm dan 850 nm; (b) evaluasi OES pada panjang gelombang antara 275 nm dan 425 nm. [11].



Gambar 4. Hubungan antara waktu perlakuan dan konsentrasi H₂O dan NO₂ yang dihasilkan dalam air murni setelah perlakuan plasma jet dengan jarak 20 nm. [11].





Gambar 5. Hubungan antara waktu perlakuan dan suhu maksimal pada kulit yang dipengaruhi plasma dengan variasi jarak antara permukaan kulit dan nozzle reaktor plasma jet. [11].

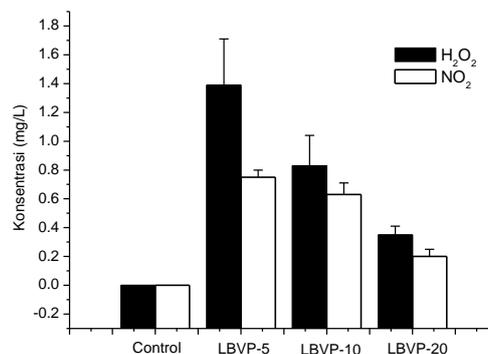
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sen et al. [13] melaporkan bahwa sejumlah aspek dalam proses penyembuhan luka bergantung pada pengatur redox yang melibatkan spesies aktif oksigen (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, dst.

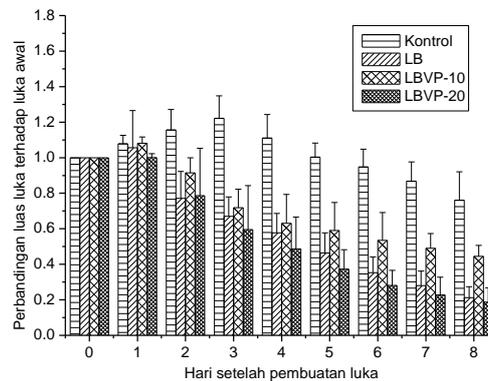
Penelitian ini menunjukkan bahwa pada area irisan lidah buaya yang diberi perlakuan plasma jet dengan jarak 5, 10 dan 20 mm terdapat senyawa H_2O_2 dan NO_2 . Setelah perlakuan plasma jet dengan jarak 5 mm, 10 mm dan 20 mm, terdapat H_2O_2 dengan konsentrasi sekitar 1,4 mg/L, 0,8 mg/L dan 0,4 mg/L. Setelah perlakuan plasma jet dengan jarak yang sama, juga terdapat NO_2 dengan konsentrasi sekitar 0,7 mg/L, 0,6 mg/L dan 0,2 mg/L. Hasil-hasil ini dapat dilihat pada Gambar 6. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa H_2O_2 dan NO_2 dapat dipertahankan keberadaannya pada permukaan irisan lidah buaya.

Gambar 7 menunjukkan grafik penyembuhan luka sampai fase proliferasi. Berdasarkan grafik tersebut tampak bahwa dari hari kedua kelompok luka yang memperoleh perlakuan lidah buaya, baik yang lidah buaya saja maupun lidah buaya yang diaktivasi oleh plasma jet, ukuran lukanya lebih kecil dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini mengindikasikan bahwa produk alam lidah buaya punya khasiat untuk mempercepat penyembuhan luka.

Lebih lanjut, berdasarkan Gambar 7 tersebut, tampak bahwa meski pun sama-sama diberi perlakuan lidah buaya yang diaktivasi plasma jet selama 2 menit namun penyembuhan luka pada kelompok LBVP-10 lebih lambat dibandingkan kelompok LBVP-20. Itu bisa dibuktikan dari ukuran luka kelompok LBVP-10 yang lebih besar dari kelompok LBVP-20 pada hari ke-4, 5 dan 6. Hal itu mengindikasikan bahwa perbedaan jarak perlakuan plasma jet pada irisan lidah buaya berpotensi memberi efek yang berbeda-beda bagi penyembuhan luka. Dalam eksperimen ini, jarak perlakuan 10 mm justru cenderung menghambat penyembuhan luka, sedang jarak perlakuan 20 mm cenderung mempercepat, meski kurang signifikan jika dibanding dengan kelompok kontrol. Adapun perbedaan efek tersebut mungkin dipengaruhi konsentrasi H_2O_2 dan NO_2 yang berbeda pada permukaan irisan lidah buaya tersebut. Grafik pada Gambar 6 menunjukkan bahwa konsentrasi H_2O_2 dan NO_2 pada LBVP-10 lebih tinggi dari LBVP-20.



Gambar 6. Hasil identifikasi senyawa H_2O_2 dan NO_2 pada permukaan irisan lidah buaya.



Gambar 7. Histogram perbandingan luas luka terhadap luka awal sampai fase proliferasi. Histogram ini mencerminkan penyembuhan luka sampai fase proliferasi.

Penelitian ini merupakan upaya untuk memadukan produk alam lidah buaya 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 irisan lidah buaya yang diberi perlakuan plasma jet dengan jarak yang berbeda memiliki dampak yang berbeda bagi penyembuhan luka.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini melalui Program Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (PDUPT) dengan nomor kontrak: 004/L6/AK/SP2H/ PENELITIAN/2019.

REFERENSI

- [1] Fridman A, Gary, F, 2013, Plasma medicine. West Sussex: John Wiley and Sons
- [2] B. Haertel, Tv. Woedtke, K.-D. Weltmann, U. Lindequist, Non-thermal atmospheric pressure plasma possible application in wound healing, *Biomol. Ther.* 22 (6) (2014) 477–490.
- [3] Woedtke vT, Metelmann H-R, Weltmann K.-D., 2014, Clinical plasma medicine: state and perspectives of in vivo application of cold atmospheric plasma, *Contrib. Plasma Phys.* 54, 104.
- [4] K-D. Weltmann, Th. Woedtke, Plasma medicine—current state of research and medical application, *Plasma Phys. Control. Fusion.* 2017. 59: 014031-014042.
- [5] Nasruddin, Y. Nakajima, K. Mukai, HSE. Rahayu, M. Nur, T. Ishijima, H. Enomoto, Y. Uesugi, J. Sugama, T. Nakatani, Cold plasma on full-thickness cutaneous wound accelerates healing through promoting inflammation, re-epithelialisation and wound contraction *Clinical Plasma Medicine.* 2014;2:.28-35.
- [6] H. Jablonowski, Tv. Woedtke, Research on plasma medicine-relevant plasma-liquid interaction: What happened in the past five years? *Clinical Plasma Medicine.* 2015: 3 (2): 42-



52.

[7] Nasruddin, Y.Nakajima, K.Mukai, E.Komatsu, HSE. Rahayu, M.Nur, T.Ishijima, H.Enomoto, Y.Uesugi, J.Sugama, T.Nakatani. A simple technique to improve contractile effect of cold plasma jet on acute mouse wound by dropping water. *Plasma Processes and Polymers* 2015; 12: 1128-1138.

[8] Nasruddin, IK. Putri, S. Kamal, HSE. Rahayu et al.Evaluation the effectiveness of combinative treatment of cold plasma jet, Indonesian honey, and micro-well dressing to accelerate wound healing, *Clinical Plasma Medicine*. 2017, 5–6, pp.14–25.

[9] ES Wahyuningtyas, A Iswara, Y Sari, S Kamal et al., 2018, Comparative Study on Manuka and Indonesian Honeys to Support the Application of Plasma Jet during Proliferative Phase on Wound Healing, *Clinical Plasma Medicine* 2018, 12, 1-9

[10] MH Radha, NP Laxmipriya, 2015, Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of Aloe vera: A systematic review: *Journal of Traditional and Complementary Medicine* 5, 21-26.

[11] S Darmawati, A Rohmani, LH Nurani, et al, When plasma jet is effective for chronic wound bacteria inactivation, is it also effective for wound healing? *Clinical Plasma Medicine* 2019, 14, 100085

[12] HSE Rahayu, N Nasruddin, et al., 2019, Ethanolic extract of the natural product of Daun sirih (Piper betle) leaves may impede the effectiveness of the plasma jet contact style for acute wounds, *Clinical Plasma Medicine*, 15, 100090

[13] CK. Sen, S. Roy, Redox signals in wound healing, *Biochimica et Biophysica* 1780 (2008) 1348–1361.

