



JLabMed

Journal Homepage: <http://jurnal.unimus.ac.id/index.php/JLabMed>

e-ISSN: 2549-9939

GAMBARAN HISTOLOGI FASE REMODELLING JARINGAN LUKA KRONIK KULIT MENCIT SETELAH PEMBERIAN PERLAKUAN PLASMA JET

Gela Setya Ayu Putri^{*1,2}, Ali², Nasruddin^{1,3}

¹ Laboratorium iPlasmed, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

² Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

³ Magister Ilmu Laboratorium Klinik, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

***Corresponding Author:**

Gela Setya Ayu Putri, Laboratorium iPlasmed, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273. E-mail: gela@unimus.ac.id

ABSTRAK

Aspek medis plasma secara konseptual berkaitan dengan kemampuan plasma untuk menghasilkan molekul biologis, seperti RONS, yang secara fisik dapat dikontrol melalui dosis dan perilaku. RONS dalam konsentrasi mikro dilaporkan bahwa memiliki khasiat penyembuhan luka. Efek plasma jet pada luka kronis kulit mencit pada hari ke-14 yang secara teoritis termasuk dalam fase remodelling belum banyak dikaji. Tujuan penelitian untuk menghitung jumlah sel inflamasi, fibroblast, pembuluh darah, persentase re-epitelisasi dan persentase nekrosis. Metode penelitian Eksperimental dengan desain deskriptif analitik. Hasil pengamatan mikroskopik didapatkan bahwa data jumlah sel Inflamasi (sel bulat) pada Kelompok Kontrol lebih tinggi secara signifikan ($P < 0,05$) dibandingkan Plasma Non-Kontak. Data perhitungan pembuluh darah didapatkan kelompok Kontrol lebih tinggi secara signifikan ($P < 0,05$) dibandingkan kelompok Plasma Kontak-Non Kontak dan kelompok Plasma Non-Kontak. Berdasarkan data jumlah fibroblast didapatkan kelompok Plasma Kontak-Non Kontak lebih tinggi secara signifikan ($P < 0,05$) dibandingkan Kelompok Kontrol dan Kelompok Plasma Kontak-Kontak. Berdasarkan data persentase re-epitelisasi didapatkan hasil pada semua kelompok perlakuan berbeda tetapi tidak signifikan ($P > 0,05$). Berdasarkan data jumlah persentase nekrosis didapatkan hasil pada semua kelompok perlakuan berbeda tetapi tidak signifikan ($P > 0,05$).

Kata Kunci: Plasma jet, Luka kronis, Pewarnaan HE.

Pendahuluan

Hasil analisis oleh *Medicare Beneficiaries* mengidentifikasi bahwa 8,2 juta orang telah mengalami luka terinfeksi atau luka tidak terinfeksi. Biaya yang dibutuhkan oleh *Medicare* untuk perawatan luka akut dan kronis berkisar dari \$28,1 miliar hingga \$96,8 miliar (Sen, 2019). Fenomena tersebut mendorong pentingnya bekerja sama dengan interdisipliner *Medicare* untuk mengatasi masalah perawatan luka akut dan kronis. Pengobatan plasma adalah ilmu multidisiplin yang melibatkan ilmu plasma, farmasi, ilmu hayati, biomedis, dan ilmu kesehatan

Info Artikel:

Diterima :01/03/2022

Direvisi :15/03/2022

Diterbitkan :31/03/2022

lainnya untuk menjadikan plasma fisik bermanfaat untuk pengobatan medis (Kong *et al*, 2009). Plasma terdiri dari bagian partikel non-reaktif dan bagian reaktif (ion).

Aspek medis plasma berkaitan dengan kemampuan plasma untuk menghasilkan molekul biologis, seperti *Reactive Oxygen Nitrogen Species* (RONS), yang secara fisik dapat dikontrol melalui dosis dan perilaku (Lu X, 2015). RONS dalam konsentrasi mikro dilaporkan bahwa memiliki khasiat penyembuhan luka (Soneja, 2005; Sen, 2003). Kemampuan plasma atmosfer untuk menyembuhkan luka kulit telah dilaporkan (Haertel *et al*, 2014; Nasruddin, 2014, 2015; Bekeschus *et al*, 2016; Arndt *et al*, 2018), namun laporan penelitian tentang efek plasma jet pada luka kronis belum banyak dikaji. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pada fase penyembuhan luka pada hari ke-14 yang secara teoritis masuk dalam fase *remodelling*. Fase *remodelling* merupakan fase terakhir dalam penyembuhan luka, biasa disebut dengan fase pematangan. Sel epitel baru pada fase ini sudah menutupi bagian tepi luka secara keseluruhan. Perubahan susunan serat kolagen terjadi secara mikroskopis (Kumar, Vinay *et al*, 2018).

Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai observasi tentang gambaran mikroskopik jaringan luka kulit mencit yang diinfeksi bakteri pada hari ke-14 yang diberi perlakuan plasma jet dengan pengecatan *hematoxylin eosin* (HE). Tujuan penelitian ini untuk menghitung jumlah sel inflamasi, fibroblast, pembuluh darah, persentase re-epitelisasi dan persentase nekrosis jaringan luka kulit mencit yang diinfeksi bakteri pada hari ke-14 yang diberi perlakuan plasma jet.

Metode

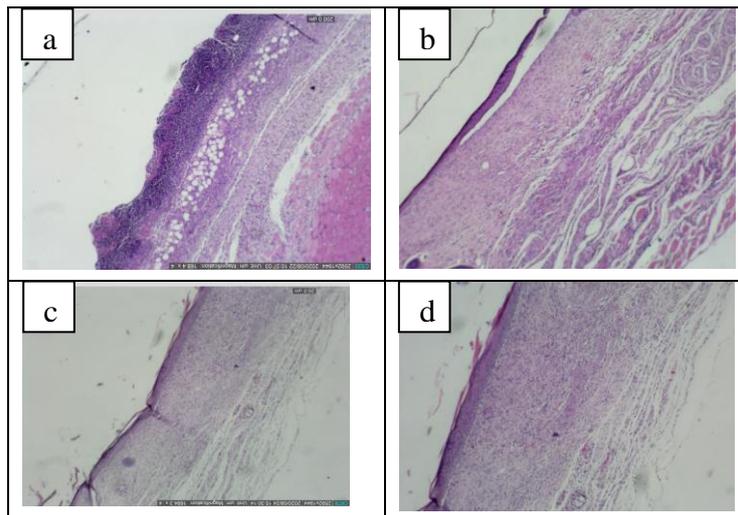
Penelitian dilakukan di laboratorium Plasma Medis Eksperimental Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang. Sampel yang digunakan 28 preparat terdiri dari 4 kelompok, terdiri dari: a) preparat kontrol sebanyak 8 buah (luka kronis bakteri tanpa perlakuan plasma jet), b) preparat untuk plasma kontak-kontak sebanyak 6 buah (luka kronis bakteri dengan perlakuan plasma kontak jarak 5 mm), c) preparat plasma kontak-nonkontak sebanyak 8 buah (luka kronis bakteri dengan perlakuan plasma awal 0-6 hari kontak 5 mm, 7-13 hari non-kontak 20 mm), d) preparat plasma non-kontak sebanyak 6 buah (luka kronis bakteri dengan perlakuan plasma non kontak 20 mm).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah objek glass, beaker glass, timer, kapas, Mikroskop (*Dinolite edge*), kapas, kamera. Bahan yang digunakan meliputi preparat jaringan luka kulit mencit, akuades, entelan, xylol, alkohol, cat hematoxylin, cat eosin, air.

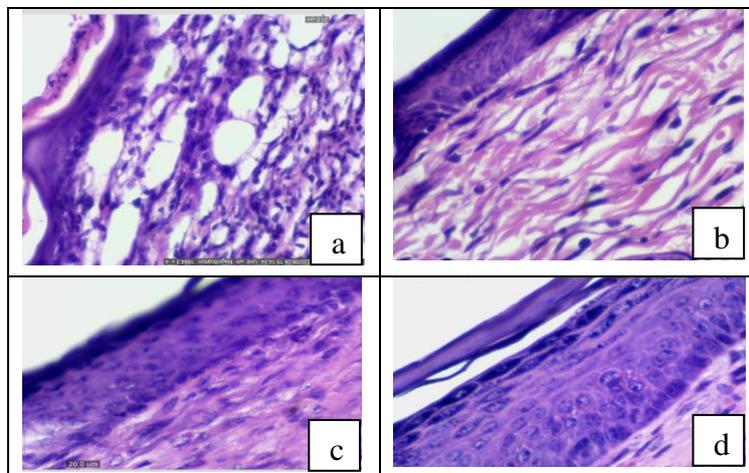
Data yang diperoleh dilakukan analisis statistik untuk menentukan perbedaan perlakuan pada jaringan luka kulit mencit. Data yang didapat berupa jumlah sel inflamasi, fibroblast, presentase nekrosis dan re-epitelisasi serta gambaran mikroskopik sel epitel.

Hasil

Hasil pengamatan secara mikroskopis dari preparat sampel jaringan luka terinfeksi bakteri yang diberi perlakuan plasma jet dan dilakukan pewarnaan HE, diperiksa di mikroskop *Dinolite edge*, didapatkan hasil sebagai berikut:



Gambar 1. Pengamatan mikroskopik (40x) jaringan luka terinfeksi bakteri dengan perlakuan plasma. Keterangan: A: Kontrol, B: Plasma kontak kontak, C: Plasma kontak non-kontak, D: Plasma non-kontak



Gambar 2. Pengamatan mikroskopik (400x) jaringan luka terinfeksi bakteri dengan perlakuan plasma. Ket: A: Kontrol, B: Plasma kontak kontak, C: Plasma kontak non-kontak, D: Plasma non-kontak

Data jumlah rata-rata perhitungan sel inflamasi (neutrofil), pembuluh darah, fibroblast, nekrosis dan re-epitelisasi dihitung dalam 5 lapang pandang pada luka kulit mencit. Data disajikan pada tabel berikut.

Tabel 1. Rata-rata jumlah sel luka pada kulit mencit

Kelompok	Sel Inflamasi (neutrofil) Mean±SD	Fibroblast	Pembuluh Darah	Nekrosis	Re-epitelisasi
Kontrol	60,34±22,74*	*7,69±4,87*	*1,19±0,51*	73,22	83,88%
Plasma Kontak-Kontak	62,82±22,66	3,25±1,95	1,30±0,47	0,00	100%
Plasma Kontak Non Kontak	45,46±9,30	16,00±7,09	0,88±0,36	71,87	94,61%
Plasma Non Kontak	104,48±57,75	5,00±1,99	0,60±0,38	0,00	100%

Diskusi

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis untuk mengamati hasil pewarnaan pada sediaan jaringan luka kulit mencit yang diwarnai dengan hematoxilin eosin, secara umum pada semua preparat terlihat inti sel, membran sel, dan matriks ekstraseluler terwarnai sempurna dimana inti sel dan membran sel berwarna biru, karena terwarnai oleh hematoxylin. Hematoxylin bersifat basa akan memberikan warna pada inti sel yang bersifat asam sehingga terwarnai biru-ungu (Khristian *et al.*, 2017).

Preparat Plasma Kontak-Non Kontak sampel 1 dan 2, preparat Plasma Kontak-Kontak sampel 1 dan 2, serta preparat Plasma-Non Kontak sampel 1 dan 2 terlihat sitoplasma dan matriks ekstraseluler berwarna merah muda terwarnai oleh eosin dimana hal ini sesuai dengan prinsip pewarnaan Hematoxylin-eosin. Eosin yang bersifat asam akan mengikat molekul protein yang bermuatan positif di sitoplasma dan jaringan ikat sehingga akan terwarnai merah muda (Khristian *et al.*, 2017). Sedangkan pada preparat Kontrol sampel 1 dan 2 terlihat sitoplasma berwarna biru, hal ini tidak sesuai dengan prinsip pewarnaan HE dimana sitoplasma yang bersifat basa akan terwarnai oleh eosin yang bersifat asam sehingga berwarna merah. Hal ini dapat dikarenakan kurangnya waktu diferensiasi dengan HCl, yang dapat diatasi dengan meningkatkan waktu diferensiasi dan mengurangi waktu pewarnaan atau mengencerkan hematoxylin.

Penurunan kualitas Eosin yang dapat diatasi dengan mengganti Eosin dengan yang baru, pewarnaan terlalu singkat diatasi dengan meningkatkan waktu pewarnaan eosin. Penyebab lain yaitu, sitoplasma telah mempertahankan warna Hematoxylin yang diaplikasikan secara regresif dan baru terdeferensiasi sebagian. Hal ini dapat diatasi dengan menggunakan Hematoxylin progresif atau menuntaskan waktu deferensiasi, dapat pula disebabkan pula pembilasan Alkohol yang tidak cukup. Hal ini dapat diatasi dengan menggunakan 3 alkohol konsentrasi 95%, celupkan masing-masing 10 kali.

Sel fibroblast pada pewarnaan *hematoxylin eosin* terwarnai dengan warna biru keunguan dimana hasil ini sesuai berdasarkan prinsip pewarnaan hematoxylin eosin, sel fibroblast bersifat asam karena hematoxylin yang bersifat basa akan memberikan warna pada inti sel yang bersifat asam sehingga terwarnai biru hingga ungu (Khristian dan Inderiati, 2017). Sel inflamasi (neutrofil) yang jumlahnya lebih banyak di semua perlakuan sedangkan sel fibroblast lebih sedikit, Hal ini disebabkan oleh senyawa yang terkandung dalam plasma jet yaitu RONS. *Reactive oxygen species* (ROS) termasuk hidrogen peroksida (H_2O_2) yang merupakan ion atau molekul sangat reaktif yang berkontribusi dalam proses angiogenik. Molekul ROS dalam proses rendah akan memulai terjadinya proses penyembuhan dengan serangkaian proses angiogenik dan dapat meningkatkan migrasi sel endotel, kemudian proliferasi yang akan meningkatkan faktor pertumbuhan (Woedtke *et al.*, 2013). Plasma medis juga menghasilkan senyawa berbasis nitrogen. Salah satu senyawa berbasis nitrogen adalah NO_2^- , molekul penting yang akan mempengaruhi proses fisiologis dalam kulit (Hauer *et al.*, 2014).

Data persentase kelompok Kontrol terdapat nekrosis dengan hasil perhitungan rerata 73,22% dan pada kelompok Plasma Kontak-Non kontak sebesar 71.87% sedangkan pada kelompok Plasma Kontak-Kontak dan Plasma Non-kontak tidak terlihat adanya nekrosis. Nekrosis adalah suatu bentuk kematian sel di mana anggota seluler hancur, dan enzim seluler bocor dan akhirnya mencerna sel. Nekrosis menimbulkan reaksi host lokal yang disebut peradangan. Peradangan diinduksi oleh zat yang dilepaskan dari sel-sel mati dan yang berfungsi untuk menghilangkan puing-puing dan memulai proses perbaikan selanjutnya. Mekanisme-mekanisme ini termasuk: kegagalan pembangkit energi dalam bentuk ATP karena berkurangnya pasokan oksigen atau kerusakan mitokondria, kerusakan membran sel, termasuk membran plasma dan membran lisosom, yang mengakibatkan kebocoran konten seluler termasuk enzim, kerusakan permanen pada lipid sel, protein, dan asam nukleat, yang mungkin disebabkan oleh ROS dan lain-lain (Kumar *et al.*, 2018).

Berdasarkan data persentase re-epitelisasi didapatkan hasil perhitungan persentase re-epitelisasi pada kelompok plasma kontak kontak dan plasma non kontak 100% dibandingkan

dengan kelompok kontrol (83,88%) dan plasma kontak non kontak (94,61%). Semua kelompok perlakuan dapat dikatakan berbeda tetapi tidak signifikan ($P>0,05$). Fase *remodelling* merupakan fase terakhir dalam penyembuhan luka, biasa disebut dengan fase pematangan. Sel epitel pada fase ini baru sudah menutupi bagian tepi luka secara keseluruhan. Secara mikroskopis terjadi perubahan susunan serat kolagen (Kumar *et al*, 2018).

Kesimpulan

Beberapa yang dapat disimpulkan dari penelitian ini diantaranya, a) jumlah sel Inflamasi (neutrofil) pada Kelompok Kontrol lebih banyak dibandingkan Plasma Non Kontak secara signifikan ($P<0,05$). b) pembuluh darah pada kelompok Kontrol lebih banyak dibandingkan kelompok Plasma Kontak-Non kontak secara signifikan ($P<0,05$) dan kelompok Plasma Non kontak secara signifikan ($P<0,05$). c) jumlah fibroblast pada kelompok Plasma Kontak-Non kontak lebih banyak dibandingkan perlakuan Kontrol secara signifikan ($P<0,05$) dan perlakuan Plasma Kontak-Kontak secara signifikan ($P<0,05$). d) Persentase re-epitelisasi pada semua kelompok perlakuan dapat dikatakan berbeda tetapi tidak signifikan ($P>0,05$). e) Persentase nekrosis pada semua kelompok perlakuan dapat dikatakan berbeda tetapi tidak signifikan ($P>0,05$).

Referensi

- Ariyadi, T. 2017. Kualitas Sediaan Jaringan Kulit Metode Microwave dan Conventional Histoprocessing Pewarnaan Hematoksilin-Eosin. *Jurnal Labora Medika*. 1(1): 07-11.
- Branemark, PI., Ekholm R., Albrektsson B., Lindstrom J., Lundborg G., Lundskog J. 1967. Tissue injury caused by wound disinfectants. *J. Bone Joint Surg. Am.* 49: 48–62
- Cordrey, R. 2011. Ultraviolet light and ultrasound, Electrical stimulation. *Acute & Chronic Wounds: Current Management Concept*, 4th ed. Missouri: *Mosby Elsevier*. pp. 360–6
- Frantz, RA. 2011. Electrical stimulation. *Acute & Chronic Wounds: Current Management Concept*, 4th ed. Missouri: *Mosby Elsevier*. 2011:pp. 353–6
- H. Jablonowski., Tv. Woedtke. 2015. Research on plasma medicine-relevant plasma- liquid interaction: what happened in the past five years?. *Clin. Plasma Med.* 3(2):42-52
- Jawetz, Melnick, Adelbergs. 2012. *Medical Microbiology*. Edisi ke-25. Diterjemahkan oleh Maulany, RF., Edinugroho, Salemba Medika, Jakarta.
- Khristian, E., Inderiati, D., 2017. *Sitohistoteknologi*. Cetakan Pertama, Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kong, M. G., Kroesen, G., Morfill, G., Nosenko, T., Shimizu, T., Van Dijk, J., Zimmermann, J. L. 2009. *Plasma medicine: An introductory review*.
- Kumar V, Abbas AK., Aster JC. 2018. *Robbins Basic Pathology*. 10th edition. Philadelphia, Pennsylvania.
- Mescher, AL. 2018. *Junquiera's Basic Histology*. fifteenth edition. Indiana University School of Medicine.
- Moriyama, M., Moriyama H., Uda J., Kubo H., Nakajima Y., Goto A., Akaki J., Yoshida I., Matsuoka N., Hayakawa T. 2016. Beneficial Effects of the Genus Aloe on Wound Healing, Cell Proliferation, and Differentiation of Epidermal Keratinocytes. *PLoS One*. 11(10): e0164799. doi:10.1371/journal.pone.0164799
- Mukai, K., Nakajima Y., Urai T., Komatsu E., Nasruddin., Sugama J., Nakatani T. 2014. 17 β -estradiol administration promotes delayed cutaneous wound healing in 40-week ovariectomized female mice. *Int. Wound J.* 13: 636-644
- Nakajima Y., Mukai K., Nasruddin., Komatsu E., Iuchi T., Kitayama Y., Sugama J., Nakatani T. Evaluation of the Effects of Honey on Acute-Phase Deep Burn Wounds. 2013. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 1-20
- Sen, CK. Human Wounds and Its Burden: An Updated Compendium of Estimates. 2019. *Advances in Wound Care*. 8(2): 39-48

- Suvarna, CL., Jhon Bancroft JD. 2019. *Theory and Practice of Histological Techniques*. 8th Edition, Nottingham:UK.
- X. Lu. 2015. Guest editorial: atmospheric pressure plasma jets and their applications. *IEEETrans. Plasma Sci.* 43:701–702.