

Pengaruh Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) Terhadap Ekspresi Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) pada Ulkus Mulut

¹Indah Setia Ningrum, ²Rochman Mujayanto *, dan ³Erwid Fatchur Rahman

¹ Program Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Islam Sultan Agung

² Departemen Penyakit Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Islam Sultan Agung

³ Departemen Bedah Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Islam Sultan Agung

*Corresponding Author:

rochman.mujayanto@unissula.ac.id

Abstrak

*Ulkus mulut dapat dialami berbagai jenis kalangan tanpa memandang usia, jenis kelamin, pekerjaan, dan lokasi tempat tinggal. Rasa tidak nyaman dan sakit yang diakibatkan ulkus dapat diatasi dengan obat antiinflamasi. Gel ekstrak daun binahong memiliki kandungan flavonoid dan saponin yang berperan sebagai antiinflamasi sehingga dapat menyeimbangkan ekspresi TNF- α sebagai agen proinflamasi yang kemudian fase inflamasi dapat cepat terlewati. Tujuan dari penelitian berikut ialah guna menganalisis ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) 40% terhadap ekspresi Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) pada penyembuhan ulkus mulut. Penelitian berikut berjenis true experimental laboratories post test only, terdiri dari 6 kelompok yaitu gel ekstrak daun binahong 40%, gel CMC-Na dan gel hyaluronic acid pada hari ke-3 dan hari ke-5. Sampel penelitian menggunakan blok parafin. Penelitian berikut menggunakan uji normalitas dengan Shapiro Wilk dengan hasil data normal dan uji homogenitas dengan uji Levene Statistic dengan hasil data homogen dengan nilai $p = 0,179$ ($p > 0,05$). Data penelitian dianalisis menggunakan uji One Way ANOVA dengan hasil ekspresi TNF- α menunjukkan perbedaan yang signifikan, dengan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Pada uji antar kelompok dengan post hoc Least Significant Difference, diketahui terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok gel ekstrak daun binahong 40% dan kelompok gel hyaluronic acid hari ke-5 $p = 0,048$ ($p < 0,05$) dan terdapat perbedaan yang tidak signifikan antara kelompok gel ekstrak daun binahong 40% hari ke-5 dan kelompok gel CMC-Na hari ke-5 $p = 0,401$ ($p > 0,05$). Hasil analisis data menunjukkan pemberian gel ekstrak daun binahong mampu menurunkan ekspresi TNF- α , dengan rata-rata pada kelompok gel CMC-Na lebih tinggi (41,65) dibandingkan kelompok gel ekstrak daun binahong 40% (36,96). Kesimpulan dari penelitian berikut ialah gel ekstrak daun binahong mempunyai efek antiinflamasi serta mempercepat penyembuhan ulkus mulut.*

Kata Kunci : Gel ekstrak daun binahong, TNF- α , Proses Inflamasi

Abstract

*Mouth ulcers can occur in various groups of people regardless of age, gender, occupation, and location of residence. Discomfort and pain caused by ulcers can be treated with anti-inflammatory drugs. Binahong leaf extract gel contains flavonoids and saponins that has a role as anti-inflammatory so that it can balance the expression of TNF- α as a pro-inflammatory agent which then the inflammatory phase can be quickly passed. This study aims to analyze the extract of binahong leaf (*Anredera cordifolia*) 40% towards the expression of Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) for mouth ulcers healing. The research design is true experimental laboratories post test only, consists of 6 groups of binahong leaf extract 40% gel, the CMC-Na gel and hyaluronic acid gel day 3 and 5 treatment. The sample of this research used paraffin block. The research used the normality test using Shapiro Wilk with normal data results and homogeneity test using Levene Statistic with homogeneous data results with the value $p = 0,179$ ($p > 0,05$). The research data analyzed by using One Way ANOVA with the result of expression TNF- α showed significant difference, with p value = $0,000$ ($p < 0,05$). In post hoc Least Significant Differencetest among groups, there was significance different between extract gel of binahong leaf 40% and hyaluronic acid gel extract day 5 group $p = 0,048$ ($p < 0,05$) and there was no significant difference between extract gel of binahong leaf 40% and CMC-Na gel day 5 $p = 0,401$ ($p > 0,05$). The results of data analysis revealed that binahong leaf extract 40% gel can reduce the TNF- α expression, with mean of CMC-Na gel group was higher (41.65) than the 40% binahong leaf extract gel group (36.96). The conclusion of this research is the binahong leaf extract gel has anti-inflammation effect and boost mouth ulcers healing.*

Keywords: Binahong leaf extract gel, TNF- α , Inflammation Process

1. PENDAHULUAN

Ulkus merupakan suatu kondisi yang sering terjadi dimasyarakat Indonesia dari berbagai kalangan usia, jenis kelamin, pekerjaan dan lokasi tempat tinggal baik di pedesaan maupun di perkotaan (Amtha, Marcia and Aninda, 2017). Ulkus terjadi karena timbul kondisi patologis yang ditandai dengan hilangnya lapisan epitelium hingga melebihi membran basalis serta mengenai lamina propia (Hernawati *et al.*, 2019). Ulkus dapat terjadi karena adanya kontak mukosa mulut dengan trauma (Pramono, Adiwirno and Mayasari, 2017). Kondisi trauma yang mengakibatkan terbentuknya ulkus yakni trauma mekanik, kimia, termal dan elektrik pada mukosa mulut (Jinbu and Demitsu, 2014).

Proses penyembuhan ulkus meliputi 3 fase yaitu inflamasi, proliferasi dan maturasi/remodeling (Gonzalez *et al.*, 2016). Proses penyembuhan ulkus diharapkan dapat terjadi sembuh dengan cepat, karena jika ulkus terjadi dalam waktu yang cukup lama sehingga dapat mengurangi kenyamanan penderita dalam beraktivitas (Myers and Curran, 2014). Rasa sakit dan nyeri terjadi jika ulkus disentuh baik saat makan, berbicara maupun menelan (Khairiati, Martalinda and Bakar, 2018). Proses penyembuhan melibatkan peran penting dari sel-sel inflamasi serta memfasilitasi pembentukan sel baru. Proses inflamasi menyebabkan aktivasi makrofag jaringan serta infiltrasi monosit darah (Bornado *et al.*, 2015). Stimulasi makrofag kemudian akan mengeluarkan sitokin proinflamasi diantaranya adalah produksi *Tumor Necrosis Factor- α* (*TNF- α*). *TNF- α* merupakan mediator proinflamasi yang bermanfaat untuk merangsang sel-sel inflamasi, fibroblast dan sel epitel (Rachmawati, 2017). Kadar *TNF- α* yang tinggi pada ulkus merupakan tanda bahwa proses inflamasi sedang berlangsung. Turunnya kadar *TNF- α* pada ulkus menandakan bahwa luka semakin membaik sehingga proses inflamasi dapat dengan cepat terlewati (Primadina, Basori and Perdanakusuma, 2019).

Pemanfaatan tanaman herbal masih sering digunakan sebagai alternatif di Asia terutama Indonesia sekitar 70-80% penduduk (Ardlina, Ismail A.K and Susilowati, 2015). Tanaman binahong dapat menjadi alternatif karena mengandung antiinflamasi, memiliki efek samping rendah, lebih ekonomis, tergolong aman dan belum adanya produk daun binahong untuk mendeteksi ekspresi *TNF- α* (Astuti and Handajani, 2019). Tanaman binahong sering tumbuh menjalar di pekarangan rumah sebagai tanaman hias (Gusnimar, Veri and Mutiah, 2020). Tanaman binahong mudah untuk ditanam dan didapat karena pertumbuhan dan perkembangan tanaman binahong sesuai dengan dataran Indonesia yang tropis, baik di dataran rendah maupun dataran tinggi (Taek, 2018). Perkembangan dan pemanfaatan tanaman binahong layak untuk dijadikan sebagai tanaman obat untuk penyembuhan ulkus karena mudahnya ditanam dan sebagai penggunaan alternatif (Pebri, Rinidar and Amiruddin, 2017).

Kemampuan daun binahong dalam penyembuhan luka tak terlepas dari kandungan senyawa aktif yang ada pada daun binahong. Kandungan antiinflamasi yang terdapat didalam daun binahong diantaranya yaitu senyawa saponin dan flavonoid (Utami, Hastuti and Hastuti, 2015). Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik ingin mengidentifikasi pengaruh gel ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap ekspresi *Tumor Necrosis Factor- α* (*TNF- α*) pada proses penyembuhan luka ulkus mulut pada tikus galur wistar.

2. METODE

Penelitian yang dijalankan ialah penelitian analitik dengan rancangan penelitian *true experimental laboratories post test only* dengan tikus galur wistar yang sudah dalam bentuk blok parafin. Pada penelitian ini terbagi menjadi 3 kelompok yaitu satu kelompok blok paraffin gel *hyaluronic acid*[®] (kontrol positif), satu kelompok blok parafin gel *CMC-Na* (kontrol negatif) dan satu kelompok blok parafin dengan perlakuan tikus sebelumnya diberi gel ekstrak daun binahong konsentrasi 40%.

Alat dan bahan yang dipergunakan pada penelitian untuk proses Pengamatan ekspresi *TNF- α* pada tikus wistar ialah Mikrotom, Beaker Glass, Kapas/Tissue, *Tissue Casette*, *Poly-L-Lysine Slide*, *Deckglass*, Mikroskop *Olympus BX51*, Formalin Buffer, Larutan Xylol, Larutan Alkohol Absolut 95%, 80%, 70% , 50%, Aquades, Blok Parafin, *TRIS EDTA* pH 9, Metanol H₂O₂, Universal Link, Hematoxylin, Canada Balsam.

Proses pemotongan jaringan pada blok parafin meliputi pemberian label sesuai nomor spesimen pada gelas obyek. Alat yang digunakan untuk memotong blok parafin yaitu mikrotom. Waterbath disiapkan pada suhu 40° C. Blok parafin diletakan pada head microtom dan diatur sesuai ketebalan yang dikehendaki. Pemotongan blok parafin dilakukan dengan tebal 4-5 mikron. Sayatan yang didapatkan diletakan pada watherbath agar dapat mengembang dengan baik lalu tiriskan. Kemudian sayatan diletakkan pada slide *poli-L-lysine* selanjutnya diinkubasi pada suhu 58°C selama 1 malam yang bertujuan agar lebih melekat pada slide.

Proses penghilangan paraffin disebut dengan deparafinisasi yang bertujuan agar jaringan dapat diberi pewarnaan. Ekspresi molekul yang positif dengan antibodi primer akan terlihat berwarna coklat dibawah mikroskop *Olympus BX51* dalam skala pembesaran 400x. Dipilih lapang pandang yang paling banyak area positif, lalu dihitung jumlah area positif pada lima lapang pandang.

Pembacaan preparat dilakukan dengan pengamatan ekspresi *TNF- α* diketahui dengan analisis gambar hasil pemotretan 5 bidang pandang preparat, kemudian dianalisis dengan *software image j*. Luas area berwarna coklat pada preparat dihitung dengan *image j* sebagai presentase area kemudian diubah menjadi hitam dan putih. Presentase hitam sama dengan luas area coklat atau area positif yang dibandingkan dengan keseluruhan luas. Area coklat yang luas menunjukkan adanya ekspresi *TNF- α* yang cukup banyak.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian efek gel ekstrak daun binahong terhadap ekspresi *TNF- α* diperlihatkan di tabel 1 :

Tabel 1. Rata-Rata Ekspresi *TNF- α*

Kelompok	Jumlah sampel	Rata-rata	Standar deviasi
Gel <i>CMC-Na</i> hari ke-3 (K3)	4	41,66	5,59
Gel <i>CMC-Na</i> hari ke-5 (K5)	4	39,39	5,06
Gel ekstrak Daun Binahong 40% hari ke-3 (B3)	4	36,97	4,23
Gel ekstrak Daun Binahong 40% hari ke-5 (B5)	4	33,16	11,48
Gel <i>hyaluronic acid</i> hari ke-3 (G3)	4	30,77	10,49
Gel <i>hyaluronic acid</i> hari ke-5 (G5)	4	29,86	17,63

Berdasarkan tabel 1, dapat diketahui bahwasanya nilai rata-rata ekspresi *TNF- α* pada kelompok yang diberi gel ekstrak daun binahong 40% lebih rendah dibanding dengan kelompok *CMC-Na* sebagai kontrol negatif. Sehingga kelompok yang diberi gel ekstrak daun binahong 40% mampu menurunkan ekspresi *TNF- α* pada penyembuhan ulkus mulut tikus wistar.

Tabel 2 Hasil Uji Normalitas dan Uji Homogenitas

Kelompok	<i>Shapiro-wilk</i>	<i>Levene Test</i>
Gel Ekstrak Daun Binahong 40% hari ke-3	.434	
<i>CMC-Na</i> hari ke-3	.172	
Gel Hyaluronic acid hari ke-3	.756	
Ekspresi <i>TNF-α</i> Gel Ekstrak Daun Binahong 40% hari ke-5	.777	.179
<i>CMC-Na</i> hari ke-5	.745	
Gel Hyaluronic acid hari ke-5	.340	

Berdasarkan hasil data yang diperoleh, selanjutnya dilakukan uji normalitas serta uji homogenitas. Digunakan uji normalitas *Saphiro-Wilk* serta uji homogenitas Levene test. Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk Test* pada seluruh kelompok diperoleh nilai signifikansi ($p>0,05$). Hal tersebut memperlihatkan bahwasanya data terdistribusi normal. Uji homogenitas menggunakan *Levene Test* memperoleh nilai ($p>0,05$). Hal tersebut memperlihatkan distribusi seluruh data kelompok homogen.

Tabel 3 Hasil Uji One Way ANOVA

	Asymp Sig
<i>Beetween Groups</i>	.000

Data tabel 3 memperlihatkan nilai signifikansi 0,000 ($p<0,05$) sehingga memperlihatkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan gel ekstrak daun binahong 40% hari ke-3 dan ke-5, kelompok kontrol negatif *CMC-Na* hari ke-3 dan ke-5, dan kelompok kontrol positif gel *hyaluronic acid* hari ke-3 dan ke-5.

Hasil penelitian yang sudah dijalankan menunjukkan gel ekstrak daun binahong 40% mampu menurunkan ekspresi *TNF- α* pada penyembuhan ulkus mulut tikus wistar. Hal tersebut dapat diamati dari rata-rata daerah ekspresi *TNF- α* pada kelompok kontrol negatif lebih tinggi dibanding rata-rata daerah ekspresi *TNF- α* pada kelompok perlakuan. Luas rata-rata ekspresi *TNF- α* kelompok kontrol negatif *CMC-Na* hari ketiga 41,65 dan luas rata-rata ekspresi *TNF- α* pada kelompok perlakuan gel ekstrak daun binahong 40% hari ketiga 36,96.

Berdasarkan hasil tersebut, terjadi penurunan ekspresi *TNF- α* setelah diberi perlakuan pemberian gel ekstrak daun binahong 40% jika dilihat dari rata-rata ekspresi *TNF- α* dibandingkan dengan pemberian gel *CMC-Na* sebagai nilai acuan normal penyembuhan ulkus. Hasil penelitian tersebut sejalan dengan penelitian sebelumnya (Samirana et al., 2016) mengenai pemberian daun binahong dalam bentuk ekstrak etanol pada luka punggung memiliki aktivitas penyembuhan luka. Kemampuan daun binahong dalam penyembuhan luka tak terlepas dari kandungan senyawa aktif yang ada dalam daun binahong.

Daun binahong memiliki berbagai macam komponen aktif seperti flavonoid, saponin, alkaloid, fenol, dan terpenoid. Senyawa aktif yang paling banyak ditemukan pada tanaman binahong adalah saponin. Saponin dapat dijumpai diseluruh bagian tanaman binahong seperti bagian daun, batang, umbi dan akar. Kadar senyawa saponin yang paling tinggi terletak pada bagian daun binahong.

Daun binahong memiliki peran sebagai agen antiinflamasi dengan kandungan senyawa kimia yang dimiliki yaitu saponin, flavonoid dan kadar air yang tinggi. Kadar air yang tinggi mampu menjaga area ulkus dalam keadaan lembab. Keadaan lembab dibutuhkan dalam proses penyembuhan ulkus karena keseimbangan kelembaban luka akan merangsang aktivitas keratinosit. Gel ekstrak daun binahong dapat digunakan sebagai pengobatan topikal yang cocok digunakan pada luka luar seperti penyembuhan ulkus.

Kandungan saponin dalam daun binahong dapat mempercepat proses penyembuhan ulkus karena mampu meningkatkan produksi kolagen tipe I. Kolagen tipe I ialah suatu protein yang berperan pada proses awal penyembuhan ulkus. Mekanisme kerja dari saponin dengan menghambat kerja enzim siklooksigenase dengan cara mengkatalisis reaksi asam arakidonat menjadi senyawa endoperoksidase. Siklooksigenase berperan pada pembentukan prostaglandin, karena kerja dari siklooksigenase dihambat maka sintesis prostaglandin akan menurun dan menurunkan ekspresi dari *TNF- α* sehingga reaksi radang akan menjadi lebih singkat serta mempercepat proses penyembuhan.

Penurunan *TNF- α* terjadi karena ekstrak daun binahong memiliki senyawa kimia flavonoid yang mampu menekan produksi leukotriene sehingga sel radang pada ulkus akan mengalami penurunan. Cara kerjanya dengan menghambat ekspresi *COX-2* dengan mekanisme menghambat aktivasi NF κ B sehingga menghambat sintesis *TNF- α* . Penghambatan sintesis *TNF- α* mengakibatkan berkurangnya rangsangan pada fosfolipid membran sel, sehingga asam arakhidonat tak dibebaskan dari fosfolipid membran sel oleh aktivasi fosfolipase. Kondisi tersebut mengakibatkan berkurangnya sintesa protein *COX-2* serta biosintesis prostaglandin sehingga mengurangi respon inflamasi.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian terkait pengaruh ekstrak daun binahong (*anredera cordifolia (ten) steenis*) terhadap ekspresi *Tumor Necrosis Factor- α* (*TNF- α*) pada ulkus mulut Gel ekstrak daun binahong (*Andredera cordifolia*) 40% mempunyai efek guna mengurangi waktu proses inflamasi dengan mengurangi ekspresi *Tumor Necrosis Factor- α* (*TNF- α*) dan sebagai antiinflamasi pada penyembuhan ulkus mulut tikus wistar.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih dan dukungan saya haturkan kepada Allah SWT dan pihak terkait yang membantu saya menyelesaikan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Amtha, R., Marcia, M. and Aninda, A. I. 2017. Plester Sariawan Efektif dalam Mempercepat Penyembuhan Atomatitis Aftosa Rekuren dan Ulkus Traumatikus. 3(2), pp. 69–75.
- Ardlina, N., Ismail A.K, A. and Susilowati, A. 2015. Pengaruh Ekstrak Biji Semangka (*Citrullus Lanatus*) Terhadap Jumlah Fibrolas Pada Penyembuhan Ulkus Traumatikus. *ODONTO : Dental Journal*, 2(1), p. 58. doi: 10.30659/odj.2.1.58-63.
- Astuti, K. E. W. and Handajani, S. R. 2019. Efektifitas Anti Inflamasi Formulasi Kunyit (*Curcuma Longa*), Daun Binahong (*Anredera Cordifolia*) Dan Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata*) Terhadap Luka Sayat Pada Kelinci. *Interest : Jurnal Ilmu Kesehatan*, 8(1), pp. 211–221. doi: 10.37341/interest.v8i1.124.
- Bornado, B. *et al.* 2015. Peran Monosit (Makrofag) Pada Proses Angiogenesis Dan Fibrosis. *Seminar Nasional Cendekiawan*, pp. 254–259.

- Gonzalez, A. C. de O. *et al.* 2016. Wound Healing - A Literature Review. *An Bras Dermatol*, 91 (5)(5), pp. 614–620. doi: 10.1590/abd1806-4841.20164741
- Gusnimar, R., Veri, N. and Mutiah, C. 2020. Pengaruh Air Rebusan Daun Binahong Dalam Mempercepat Penyembuhan Luka Perineum Masa Nifas. *SEL Jurnal Penelitian Kesehatan*, 8 (1)(1), pp. 14–21. <https://doi.org/10.22435/sel.v8i1.4521>.
- Hernawati, S. *et al.* 2019. The Effects of Topical Application of Red Pomegranate (*Punica granatum* Linn) Extract Gel on the Healing Process of Traumatic Ulcers in Wistar Rats. 90(32), pp. 90–94. doi: 10.20473/j.djmk.v52.i2.p90.
- Jinbu, Y. and Demitsu, T. 2014. Oral Ulcerations Due to Drug Medications. *Japanese Dental Science Review*, 50(2), pp. 40–46. doi: 10.1016/j.jdsr.2013.12.001.
- Khairiati, Martalinda, W. and Bakar, A. 2018. Ulkus Traumatikus Disebabkan Trauma Mekanik dari Sayap Gigi Tiruan Lengkap (Laporan Kasus). *B-Dent, Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah*, 1(2), pp. 112–117. doi: 10.33854/jbdjbd.6.
- Myers, S. L. and Curran, A. E. 2014. *General and Oral Pathology for Dental Hygiene Practice*. F.A. Davis Company, Philadelphia. Edited by J. Ajello. T. Quincy McDonald. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.
- Pebri, I. G., Rinidar and Amiruddin. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Insisi (*Vulnus incisivum*) pada Mencit (*Mus musculus*). *Jimvet*, 2(1), pp. 1–11.
- Pramono, A., Adiwirno, B. and Mayasari, L. O. 2017. Efektifitas Pemberian Ekstrak Gel Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* Linn) Terhadap Kesembuhan Ulkus Traumatikus Studi In Vivo terhadap mukosa Tikus (Strain Wistar). (September), pp. 39–44.
- Primadina, N., Basori, A. and Perdanakusuma, D. S. 2019. Proses Penyembuhan Luka Ditinjau dari Aspek Mekanisme Seluler dan Molekuler. *Qanun Medika*, 3(1), p. 31. doi: 10.30651/jqm.v3i1.2198.
- Rachmawati, N. 2017. Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* mill) Terhadap Pertumbuhan Epidermis dan Ekspresi Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) Sebagai Penyembuhan Luka Insisi Pada Hewan Coba Tikus *Rattus norvegicus*. *Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Universitas Brawijaya*.
- Taek, Y. M. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). pp. 24–25.
- Utami, H. F., Hastuti, R. B. and Hastuti, E. D. 2015. Kualitas Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) pada Suhu Pengeringan Berbeda. *jurnal Biologi*, 4(2), pp. 1–9.