

Uji Aktivitas Peningkatan Fibrogenesis Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) 10% Dalam Penyembuhan Luka Diabetes Pada Tikus Galur *Sprague dawley*

I Putu Riska Ardinata ^{a, 1*}, Bagus Komang Satriyasa ^{b, 2}, I Wayan Sumardika ^{b, 3}

^a Mahasiswa Program Magister Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana

^b Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana

¹ ardinata64@gmail.com*; ² bksatriyasa@unud.ac.id; ³ wsumardika@unud.ac.id

*korespondensi penulis

INFO ARTIKEL	ABSTRAK
<p>Sejarah artikel: Diterima : 15-10-2022 Direvisi : 21-10-2022 Disetujui : 11-11-2022</p> <p>Kata kunci: Daun binahong Salep ekstrak Luka diabetes Fibrogenesis Sel fibroblas</p>	<p>Kondisi diabetes menyebabkan adanya penurunan aktivitas <i>glucose-6-phosphate dehydrogenase</i> yang juga berpengaruh ke sintesis nitrooksida yang menurun. Penurunan ini menyebabkan peningkatan <i>Reactive oxygen species</i> (ROS) sehingga akan memperlambat proses vasokonstriksi, angiogenesis dan dapat memperpanjang inflamasi yang secara langsung berpengaruh ke sel fibroblas. Penelitian dilakukan untuk melihat peningkatan aktivitas fibrogenesis berupa pembentukan jaringan ikat dengan melihat sel fibroblast dengan histopatologi. Tikus jantan Galur <i>Sprague dawley</i> yang sudah diinduksi dengan STZ (Streptozotocin) dengan dosis 40mg/kgBB. Tikus dibagi ke dalam 4 kelompok kelompok uji ekstrak yang diberikan salep 10%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok uji yang diberi salep ekstrak 10% daun <i>Anredera scandens</i> (L.) Moq. skoring histopatologi fibrogenesis pada kelompok ekstrak 10% daun <i>Anredera scandens</i> (L.) Moq. Menunjukkan rata-rata nilai skor sebesar 3,5 yang signifikan (P=0,032) dibandingkan kelompok negatif dengan nilai rata-rata sebesar 2,75 pada hari ke-14. Namun jika dibandingkan dengan skoring kelompok positif sebesar 3,5 kelompok ekstrak daun <i>Anredera scandens</i> (L.) Moq. menunjukkan nilai skor tidak signifikan (P=1,000) atau memiliki kemampuan yang setara dalam pembentukan jaringan ikat. Berdasarkan penelitian didapatkan hasil ekstrak daun <i>Anredera scandens</i> (L.) Moq. memiliki kemampuan dalam meningkatkan aktivitas fibrogenesis secara histopatologi mampu mempercepat pembentukan jaringan ikat pada hari ke-14 yang setara dengan kontrol positif.</p>
<p>Key word: Binahong leaves Ointment Extract Diabetic wound Fibrogenesis Fibroblast cell</p>	<p>ABSTRACT</p> <p>Diabetes conditions cause a decrease in <i>glucose-6-phosphate dehydrogenase</i> activity which also affects the decreased nitrous oxide synthesis. This decrease causes an increase in reactive oxygen species (ROS) so that it will slow down the process of vasoconstriction, angiogenesis and can prolong inflammation which directly affects fibroblast cells. The study was conducted to see the increase in fibrogenesis activity in the form of connective tissue formation by looking at fibroblast cells with histopathology. <i>Sprague dawley</i> male rats that have been induced with STZ (Streptozotocin) at a dose of 40mg/kgBW. Rats were divided into 4 groups of extract test groups which were given 10% ointment. The results showed that the test group that was given an ointment with 10% extract of the leaves of <i>Anredera scandens</i> (L.) Moq. histopathological scoring of fibrogenesis in the 10% extract group of leaves of <i>Anredera scandens</i> (L.) Moq. Shows an average score of 3.5 which is significant (P=0.032) compared to the negative group with an average score of 2.75 on day 14. However, when compared with the positive group's score of 3.5, the leaf extract group of <i>Anredera scandens</i> (L.) Moq. showed that the score was not significant (P=1,000) or had an equivalent ability in the formation of connective tissue. Based on the research, the results of the leaf extract of <i>Anredera scandens</i> (L.) Moq. has the ability to increase histopathological fibrogenesis activity capable of accelerating the formation of connective tissue on day 14 which is equivalent to positive control.</p> <p>This is an open access article under the CC-BY-SA license.</p>



Pendahuluan

Hiperglikemia merupakan suatu kondisi dimana kadar glukosa dalam darah melebihi kadar normal. Kondisi ini merupakan salah satu ciri dalam penyakit diabetes mellitus (DM). Penyakit DM merupakan penyakit yang disebabkan oleh gaya hidup yang kurang sehat seperti seringnya mengonsumsi makanan/minuman tinggi gula. Salah satu komplikasi dari DM yang sering terjadi adalah luka diabetes (diabetes ulcers) sering kali disebut diabetes foot ulcers, luka neuropati, luka diabetes neuropati. Luka diabetes adalah luka yang terjadi pada pasien diabetes yang melibatkan gangguan pada saraf perifer dan otonomik. Luka diabetes dengan gangren didefinisikan sebagai jaringan nekrosis atau jaringan mati yang disebabkan oleh karena adanya emboli pembuluh darah besar arteri pada bagian tubuh sehingga suplai darah terhenti. Dapat terjadi sebagai akibat proses inflamasi yang memanjang, perlukaan akibat digigit hewan, kecelakaan kerja atau terbakar, proses degeneratif (arteriosklerosis) atau gangguan metabolik (diabetes melitus) (Lipsky et. al., 2012).

Kondisi diabetes menyebabkan adanya penurunan aktivitas glucose-6-phosphate dehydrogenase yang juga berpengaruh ke sintesis nitrooksida yang menurun. Penurunan sintesis nitrooksida menyebabkan peningkatan Reactive oxygen species (ROS) sehingga akan memperlambat proses vasokonstriksi, angiogenesis dan dapat memperpanjang inflamasi (Patel et. al., 2019). Sitokin yang memainkan peran penting dalam mengatur inflamasi dalam penyembuhan luka. Beberapa contoh sitokin adalah Tumor Necrosis Factor (TNF), Interferon (INF) dan Interleukin (IL). Interleukin sendiri kembali dibagi menjadi beberapa jenis, yaitu: IL-1 α dan β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-4 dan IL-10. IL-1 β adalah molekul inflamasi penting yang diproduksi oleh monosit darah dan makrofag jaringan. Sitokin ini diaktifkan melalui pembelahan caspase-1 di lisosom sekretori, setelah aktivasi caspase-1 oleh inflammasome NALP3. Seiring dengan terjadinya peradangan, IL-1 β juga menstimulasi peradangan melalui peningkatan mobilisasi leukosit dari sumsum tulang dan sekresi protein fase akut dari hati. Kadar IL-1 β diketahui memiliki pengaruh dalam penyembuhan pada luka (DeClue dan Shornick, 2015). Penurunan kadar IL-1 β pada tikus diabetes diketahui mampu meningkatkan transisi dari fenotipe makrofag pro-inflamasi ke antiinflamasi atau reparatif yang mendorong pembentukan growth factor, dan karenanya penyembuhan luka dapat

lebih cepat (Mirza et. al., 2013). Sehingga mampu mempercepat terjadinya inflamasi yang akan mempercepat berlangsungnya fase proliferasi dimana akan terjadi peningkatan aktivitas fibrogenesis.

Tanaman *Anredera scandens* (L.) Moq. secara tradisional sudah digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat untuk luka (Manoi, 2009). Penelitian secara ilmiah mengenai aktivitas antiluka dari *Anredera scandens* (L.) Moq. sudah pernah dilaporkan. Ekstrak 70% daun *Anredera scandens* (L.) Moq. memiliki aktivitas antiluka bakar secara histopatologi (Karismawan, 2013). Ekstrak 95% daun *Anredera scandens* (L.) Moq. juga telah diteliti memiliki aktivitas antitukak pada tikus *Sprague dawley* sebagai penyembuhan luka dalam (Samirana et. al, 2015). Selain itu pada pengujian luka diabetes, varian lain Tanaman Binahong yaitu *Anredera cordifolia* (tenore) steen pada konsentrasi 10% dan 30% memiliki kemampuan menyembuhkan luka diabetes yang setara dengan kloramfenikol (Kintoko dan Desmayanti, 2016) namun tidak dijelaskan secara spesifik bagaimana mekanisme dan tidak dijelaskan secara spesifik parameter yang diuji dari penelitian tersebut.

Daun *Anredera scandens* (L.) Moq. memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder berupa triterpenoid, saponin, tanin dan flavonoid (Samirana et. al, 2015). Golongan senyawa tanin diketahui mempunyai aktivitas sebagai agen antiluka dengan mekanisme kerja yaitu mengikat radikal bebas, meningkatkan kontraksi luka serta pembentukan pembuluh kapiler dan fibroblast (Shenoy et. al., 2012). Selain itu salah satu metabolit sekunder yang sudah berhasil diisolasi dari *Anredera scandens* (L.) Moq. adalah senyawa golongan flavonoid dengan rumus struktur kimia 4',7 dihidroksi 3-O-R flavonol (Yadnya Putra et. al., 2019). Flavonoid diketahui memiliki mekanisme kerja yang mirip dengan NSAID yaitu menghambat aktivitas atau ekspresi gen mediator pro-inflamasi. Kemudian flavonoid mampu menghambat sekresi dari sitokin (Comalada et al, 2006). Oleh karena itu senyawa flavonoid pada *Anredera scandens* (L.) Moq. diduga mempunyai aktivitas dalam meningkatkan aktivitas penyembuhan luka secara tidak langsung dengan kemampuannya sebagai anti inflamasi dan berpengaruh pada penghambatan pembentukan IL-1 β .

Metode

1. Alat dan bahan

Salep ekstrak binahong 10% Salep Gentamisin; streptozotocin (STZ); IL-1 beta Rat ELISA Kit invitrogen thermo fischer; pewarna Masson trichrome; larutan BNF (Buffer Neutral Formaline); ketamine; seperangkat alat bedah; alat sentrifuse; mikroskop cahaya.

2. Hewan uji

Sejumlah 32 ekor digunakan pada penelitian ini yang dibagi menjadi 4 ekor tikus pada masing-masing kelompok perlakuan.

Tabel I. Pelakuan dan Hari Pengorbanan Masing-Masing Kelompok Hewan Uji

Pembagian kelompok uji	Perlakuan	Hari pengorbanan
K1	Kelompok Normal	Tidak diberikan perlakuan
K2a	Kelompok positif	Hari ke-14
K2b		Diberikan olesan salep Gentamisin 2 x sehari
K3a	Kelompok Negatif	Hari ke-7
K3b		Tidak diberikan salep ekstrak maupun salep Gentamisin
K4a	Kelompok Uji ekstrak 10%	Hari ke-7
K4b		Diberikan olesan salep ekstrak daun binahong 10% 1 x sehari

3. Metode

a. Proses ekstraksi

Metode ekstraksi daun *Anredera scandens* (L.) Moq. dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk daun *Anredera scandens* (L.) Moq. ditimbang sebanyak 400 g, kemudian direndam dengan pelarut etanol 70% sebanyak 4 liter selama \pm 24 jam dengan dilakukan pengadukan sesekali. Setelah \pm 24 jam, kemudian dilakukan penyaringan. Residu diremaserasi dengan cara yang sama dengan pengulangan 2 kali. Ekstrak hasil maserasi yang dihasilkan kemudian diuapkan pelarutnya dengan menggunakan alat *Rotary evaporator* pada suhu 68°C, sehingga diperoleh ekstrak kental

b. Pembuatan salep ekstrak

Bahan yang digunakan untuk pembuatan salep ekstrak yaitu 10%, 20% dan 30% dari ekstrak daun *Anredera scandens* (L.) Moq., dengan basis salep yang diadaptasi dari buku *United State Pharmacopeia* yaitu terdiri dari 0,25% metil paraben, 0,15% propil paraben, 1% *sodium lauryl sulfat*, 12% propilenglikol, 25% *stearyl alcohol*, 25% *white petrolatum* dan akuades hingga mencapai 100%.

Tabel 2. formula salep ekstrak daun *Anredera scandens* (L.) Moq

Bahan	Fungsi	Persentase
Ekstrak daun binahong 10%	Zat aktif	10%
<i>Stearyl alcohol</i>	Basis salep	25%
<i>White petrolatum</i>	Basis salep	25%
Propilenglikol	Humektan	12%
<i>Sodium lauryl sulfat</i>	Surfaktan	1%
Propil paraben	preservative	0,15%
Metil paraben	preservative	0,25%
Aquadest	Pelarut	ad 100%

c. Proses induksi diabetes

Prosedur ini diawali menginduksi model eksperimental diabetes mellitus, 24 hewan akan disuntikkan melalui suntikan intramuskular tunggal dengan STZ (40 mg/kg) yang baru disiapkan dalam buffer 0,1M natrium sitrat dingin (pH 4,5) sebelum berpuasa sekitar 16 jam, dengan hanya diberikan air secara ad libitum. Tiga hari setelah induksi, setetes darah (\pm 1,5 μ l) dari vena ekor masing-masing tikus diambil menggunakan lancet. Darah diuji menggunakan glukometer untuk menentukan perkembangan hiperglikemia. Tikus dinyatakan diabetes apabila glukosa darah puasa \geq 126 mg/dL dan digunakan dalam percobaan lebih lanjut dalam penelitian ini (Tan *et. al*, 2019).

d. Pembuatan luka

Selanjutnya semua hewan dibius dengan ketamin 90 mg/kg dan xylazine 10 mg/kg secara intramuskular setelah konfirmasi diabetes. Sebelum prosedur pembuatan luka dilakukan, bulu punggung hewan dicukur dengan gunting listrik dan didesinfeksi dengan etanol 70%. Luka eksisi secara full thickness dibuat menggunakan punch biopsi dengan diameter 6mm dan kedalaman 2mm. Luka dibiarkan terbuka selama 24 jam. Tikus dengan luka terbuka disimpan di kandang yang telah diberikan pemisah antar tikus (Tan *et. al*, 2019).

e. Preparasi sampel histopatologi

Setelah hewan dikorbakan jaringan luka hewan uji dipotong sebesar 0,5 x 0,5 cm kemudian difiksasi dengan larutan BNF (Buffer Neutral Formaline) dengan konsentrasi 10% selama 48 jam, kemudian dilakukan proses dehidrasi dengan konsentrasi etanol bertingkat berturut-turut etanol 50% selama 30 menit, etanol 90% selama 30 menit, etanol murni selama 30 menit, kemudian dilanjutkan dengan proses clearing impregnasi dan pembuatan blok. Blok yang dibuat dipotong setebal 5 μ m dengan mikrotom, hasil potongan yang berbentuk pita dibentangkan di atas air hangat yang bersuhu 46°C. Hasil potongan tersebut kemudian diangkat dan diletakkan di atas gelas objek dan

dikeringkan semalaman dalam inkubator bersuhu 60°C. Selanjutnya dilakukan pewarnaan umum Masson's Trichrome. Pada pewarnaan ini fibroblast akan berwarna biru keunguan (Tan *et. al*, 2019).

f. Analisis histopatologi

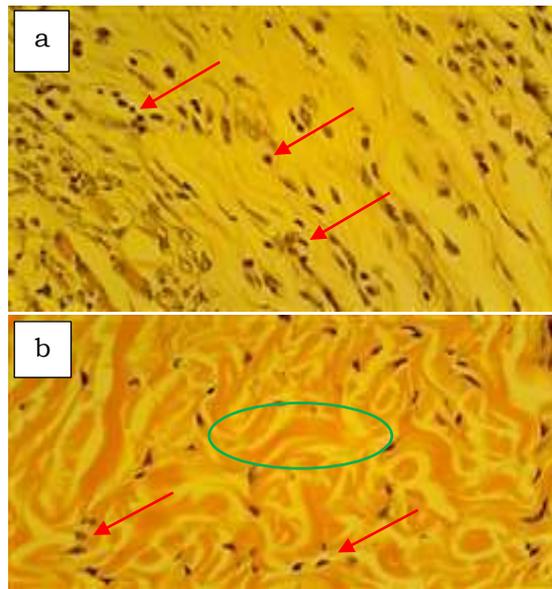
Preparat kemudian diamati menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali. Pengamatan secara histopatologi dilakukan pada 5 lapang pandang. Hasil dari tiap lapang pandang difoto dan dilakukan penilaian atau skoring dengan membandingkan jumlah sel fibroblast antara kelompok uji dengan kontrol positif, kemudian nilai persentase tersebut dilakukan skoring berkisar antara 0-4 (Klopfeisch, 2013).

Hasil dan Pembahasan

Bahan tanaman yang digunakan adalah daun *Anredera scandens* (L.) Moq. yang diperoleh dari daerah Hargobinangun, Pakem, Kabupaten Sleman, Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. Pembuatan ekstrak daun *Anredera scandens* (L.) Moq. dibuat dari 402gram serbuk yang direndam dalam etanol 70%. Sedangkan metode ekstraksi yang dipilih adalah metode maserasi yang selanjutnya diuapkan dengan alat *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental. Adapun ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 63,48gram dengan total Nilai rendemen ekstrak daun *Anredera scandens* (L.) Moq. yang diperoleh sebesar 15,79%.

Berdasarkan penelitian ini diketahui bahwa salep ekstrak daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) memiliki aktivitas dalam menyembuhkan luka diabetes berdasarkan parameter peningkatan aktivitas fibrogenesis. Hal ini dilihat dari perbandingan antar kelompok perlakuan yang mana pada kelompok uji ekstrak menunjukkan gambaran histopatologi yang signifikan yang dilihat berdasarkan nilai skoring yang dikonfirmasi melalui analisis statistik.

Kelompok positif diketahui terjadi peningkatan aktivitas fibrogenesis pada hari ke-7 namun belum menunjukkan perbedaan nilai skoring yang signifikan (2,25) hingga menjadi signifikan pada hari ke-14 (3,5) berdasarkan nilai rata-rata skoring seperti yang ditampilkan pada gambar 1. Berdasarkan gambar 1a secara visual terlihat masih banyak terdapat sel fibroblast yang menunjukkan bahwa belum terbentuknya serat kolagen yang menyebabkan luka masih belum tertutup sempurna. Kemudian pada hari ke-14 (Gambar 1b) terlihat sudah mulai berkurangnya sel fibroblast yang berganti menjadi serat kolagen yang menyebabkan tertutupnya luka diabetes dimana menggambarkan sudah berlangsungnya proses fibrogenesis.



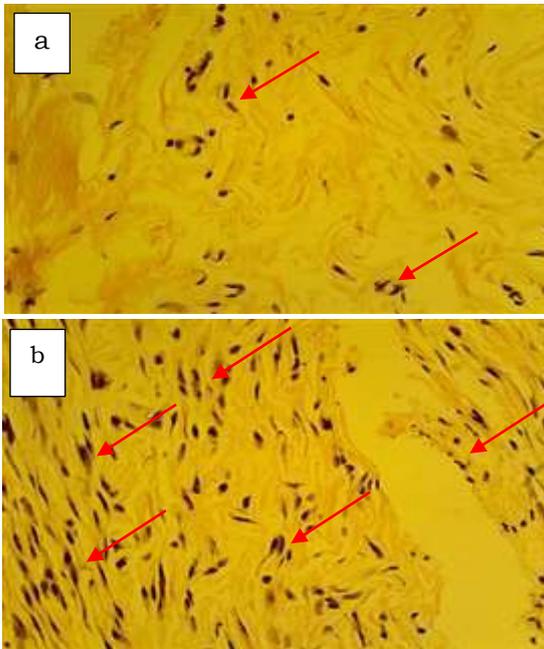
Gambar 1. Kelompok positif pada hari ke-7 (a) dan hari ke-14 (b) (merah: sel fibroblas; hijau: serat kolagen)

Hal ini diduga terjadi karena adanya bakteri dapat memengaruhi proses penyembuhan luka diabetes, dengan diberikan gentamisin topikal sebagai kontrol positif dikarenakan apabila infeksi bakteri dapat dicegah maka proses penyembuhan luka akan berlangsung lebih cepat. Menurut Smith et al (2016) kolonisasi bakteri dan proliferasi dalam ulkus kaki diabetes diyakini secara signifikan menghambat penyembuhan luka. Pembentukan biofilm oleh koloni bakteri meningkatkan kronisitas luka diabetes (Noor et. al., 2015). Koloni bakteri dalam biofilm mengeluarkan matriks atau glikokaliks, yang protektif terhadap respon imun inang dan eradikasi.

Kelompok negatif memiliki rata rata nilai skoring yang paling rendah setelah hari ke-14 diantara semua kelompok (2,75) yang ditampilkan pada gambar 2. Berdasarkan gambar 2a secara visual terlihat masih banyak terdapat sel fibroblast yang menunjukkan bahwa belum terbentuknya serat kolagen yang menyebabkan luka masih belum tertutup sempurna. Kemudian pada hari ke-14 (Gambar 2b) terlihat masih adanya sel fibroblast bahkan jumlahnya semakin banyak yang menyebabkan inflamasi luka diabetes berlangsung lebih lama dimana menghambat berlangsungnya proses fibrogenesis.

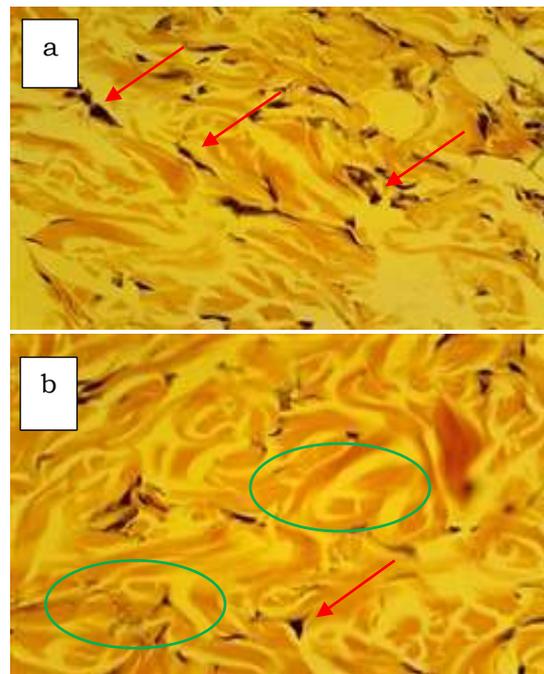
Hal ini mendukung teori dimana apabila luka diabetes tidak segera ditangani maka dikarenakan adanya konsentrasi gula berlebih akan menyebabkan penurunan aktivitas glucose-6-phosphate dehydrogenase yang juga berpengaruh ke sintesis nitrooksida yang menurun. Penurunan sintesis nitrooksida menyebabkan peningkatan *Reactive*

oxygen species (ROS) sehingga akan memperlambat proses vasokonstriksi, angiogenesis dan dapat memperpanjang inflamasi (Patel et. al. 2019). Jika dibandingkan antara kelompok negatif dengan kelompok normal, kelompok positif dan kelompok uji ekstrak, secara statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), hal ini dapat dipengaruhi oleh kematian sel beta pankreas yang memperburuk kondisi inflamasi pada luka diabetes.



Gambar 2. Kelompok negatif pada hari ke-7 (a) dan hari ke-14 (b) (merah: sel fibroblas; hijau: serat kolagen)

Gambaran histopatologi dari kelompok uji ekstrak 10% b/b menunjukkan peningkatan aktivitas fibrogenesis dari hari ke-7 ke hari-14 yang secara statistik memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol positif yang ditampilkan pada gambar 3. Berdasarkan gambar 3a dapat dilihat masih terdapat sel fibroblast namun sudah mulai terbentuk serat kolagen tetapi masih belum sempurna sehingga pada hari ke-7 luka diabetes sudah mulai menutup. Sedangkan pada gambar 3b terlihat luka sudah menutup sempurna yang terkonfirmasi lewat gambaran histopatologi yang mana serat kolagen sudah mulai terbentuk sempurna. Hal ini diduga disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak daun *Anredera scandens* (L.) Moq. Berdasarkan uji fitokimia pada penelitian ini diketahui daun *Anredera scandens* (L.) Moq. mengandung flavonoid, saponin, triterpenoid dan tannin. Kandungan metabolit sekunder ini diduga memiliki peranan penting dalam penyembuhan luka diabetes dalam peningkatan aktivitas fibrogenesis.



Gambar 3. Kelompok ekstrak 10% pada hari ke-7 dan hari ke-14 (merah: sel fibroblas; hijau: serat kolagen)

I. Flavonoid

Beberapa penelitian diketahui bahwa flavonoid mampu berperan pada kondisi diabetes mellitus (Testa et. al. 2016). Flavonoid diketahui dapat memodulasi metabolisme karbohidrat dan lipid, menurunkan hiperglikemia, resistensi insulin, mengurangi stres oksidatif dan jalur sinyal sensitif stres, dan proses inflamasi (Choi and Kim 2009). Flavonoid golongan morin, hesperidin, rutin dan chrysin diketahui efektif dalam mengurangi sitokin inflamasi IL-1 β , IL-6, dan TNF- α pada hewan diabetes, secara signifikan meningkatkan hiperglikemia, intoleransi glukosa, dan resistensi insulin (Abuhashish et. al. 2013; Niture et. al., 2014). Diabetes melitus dapat menyebabkan kerusakan sekunder pada berbagai organ seperti mata, ginjal, saraf, dan jantung. Flavonoid tidak hanya membantu memulihkan homeostasis glukosa yang melemahkan kondisi diabetes, tetapi juga mengatur kerusakan sekunder pada berbagai organ perifer (Visnagri et. al. 2014). Sehingga hal ini menyebabkan proses inflamasi berlangsung lebih cepat yang secara tidak langsung akan berpengaruh terhadap aktivitas fibrogenesis yang berlangsung pada fase setelah inflamasi yaitu fase proliferasi.

2. Saponin dan triterpenoid

Senyawa saponin pada tanaman binahong dalam penyembuhan luka diabetes diduga memiliki peran sebagai antibakteri untuk mencegah tingkat keparahan luka diabetes, seperti peran saponin dalam *Centella asiatica*. (Mahmood et. al. 2016). Selain itu beberapa sumber menyebutkan bahwa

senyawa golongan saponin memiliki kemampuan sebagai antiinflamasi. Saponin adalah rangkaian senyawa alam yang biasanya tersusun dari bagian gula (rantai gula) dan non-gula (glikosida) yang dihubungkan oleh ikatan glikosidik. Saponin dapat berupa steroid (C-27) atau triterpenoid (C-30), seperti saponin dan triterpenoid yang diketahui menunjukkan aktivitas antibakteri tertentu terhadap bakteri biofilm pada konsentrasi yang berbeda dan melekat pada satu atau lebih banyak senyawa glikon (Kacar et al., 2018). Dengan adanya kemampuan saponin dan triterpenoid sebagai antibakteri dapat meringankan kondisi inflamasi, sehingga mampu mempercepat terjadinya fase proliferasi dimana aktivitas fibrogenesis berlangsung.

3. Tannin

Senyawa tannin pada tanaman binahong dalam penyembuhan luka diabetes memiliki peran sebagai antibakteri untuk mencegah tingkat keparahan luka diabetes. Menurut Zhang et al (2020), metabolit sekunder golongan tannin memiliki kemampuan yang cukup baik dalam menghambat biofilm dari koloni bakteri *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *E. coli*. Buku teks kimia organik mendefinisikan tanin sebagai: "turunan glikosidik C- dan O dari asam galat (asam 3,4,5-trihidroksibenzoat)". Definisi ini juga hanya menjelaskan beberapa tanin dan tidak termasuk tanin terkondensasi berdasarkan unit flavan-3-ol (catechin). Salah satu turunan senyawa tannin adalah tannic acid atau asam tanat (Khanbabaee and van Ree 2001). Hal ini sejalan dengan kemampuan dari saponin dan triterpenoid sebagai antibakteri yang mampu meringankan kondisi inflamasi, namun untuk tannin diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang sering ditemukan pada luka diabetes.

Tabel 3. pengamatan skoring antar kelompok perlakuan

Pengamatan hari ke-7				
Tikus	Normal	Positif	Negatif	Ekstrak 10%
1	4	3	3	3
2	4	2	2	3
3	4	2	2	2
4	4	2	1	1
rerata	4	2,25	2	2,25
SD	0,000	0,500	0,816	0,500

Pengamatan hari ke-I4				
Tikus	Normal	Positif	Negatif	Ekstrak 10%
1	4	4	3	4
2	4	3	3	4
3	4	3	2	3

4	4	4	3	3
rerata	4	3,5	2,75	3,5
SD	0,000	0,577	0,500	0,577

Simpulan dan Saran

Berdasarkan penelitian diketahui bahwa ekstrak 10% daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) diketahui mampu mempercepat fase proliferasi sehingga dapat mempercepat aktivitas fibrogenesis melalui penurunan efek inflamasi pada luka diabetes.

Saran dari penelitian ini adalah melakukan penyesuaian pada perlakuan untuk kelompok negatif dan memberikan penutup untuk luka diabetes.

Daftar Pustaka

- Abuhashish, H. M., Al-Rejaie, S. S., Al-Hosaini, K. A., Parmar, M. Y., Ahmed, M. M. 2013. *Alleviating Effects of Morin against Experimentally-Induced Diabetic Osteopenia*. Riyadh, Saudi Arabia: *Diabetology and Metabolic Syndrome*. 5(5).
- Choi, E. J., Kim, G. H. 2009. *5-Fluorouracil Combined with Apigenin Enhances Anticancer Activity through Induction of Apoptosis in Human Breast Cancer MDA-MB-453 Cells*. Seoul, Korea: *ONCOLOGY REPORTS*. 22(12): 1533-1537.
- Comalada, M., Ballester, I., Bailón, E., Sierra, S., Xaus, J., Gálvez, J., de Medina, F.S., Zarzuelo, A. 2006. *Inhibition of pro-inflammatory markers in primary bone marrow-derived mouse macrophages by naturally occurring flavonoids: Analysis of the structure-activity relationship*. *Biochemical Pharmacology*. Vol. 72, 1010–1021.
- DeClue, C. E., Shornick, L. P. 2015. *The cytokine milieu of diabetes wounds*. Saint Louis: *Diabetes Management*. Vol. 5(6).
- Kacar, A., Avunduk, S., Omuzbuken, B., Aykin, E. 2018. *Biocidal Activities of a Triterpenoid Saponin and Flavonoid Extracts From the Erica Manipuliflora Salisb. Against Microfouling Bacteria*. Inciralti Izmir, Turkey: *International Journal of Agriculture, Forestry and Life Science*. 2 (2) 40–46.
- Karismawan, P. N. 2013. *Profil Kandungan Kimia dan Uji Aktivitas Antiluka Bakar Ekstrak Daun Binahong (Anredera Scandens (L.) Moq.) Pada Tikus Jantan Galur Sprague Dawley*, Skripsi, Denpasar: Universitas Udayana.

- Khanbabae, K., van Ree, T. 2002. *Tannins: Classification and Definition*. Paderborn, Germany: Natural Product Reports. 18(6): 641–649.
- Lipsky, B. A., Berendt, A. R., Paul, B. C., James, C. P., Edgar, J. G. P., David, G. A., Gunner, D. H., Jhon, M. E., Warren, S. J., Adolf, W. K., Michael, S. P., Eric, S. 2012. *Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guideline: IDSA Guidelines for Diabetes Foot Infections*. 54(1):132-147.
- Mahmood, A., A. K. Tiwari., O. Kucuk, and S. Ali. 2016. *Triterpenoid saponin-rich fraction of Centella asiatica decreases IL-1 β and NF- κ B, and augments tissue regeneration and excision wound repair*. Turkish Journal of Biology. Vol. 40: 399-409.
- Manoi, F. 2009. *Binahong sebagai Obat*. Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri, Vol. 15(1): 3-4.
- Mirza, R. E., Fang, M. M., Ennis, W. J., Koh, T. J. 2013. *Blocking Interleukin-1 β Induces a Healing-Associated Wound Macrophage Phenotype and Improves Healing in Type 2 Diabetes*. Chicago, Illinois: diabetes journals. Vol. 62: 2579-2587.
- Niture, N. T., Ansari, A. A., Naik, S. R. 2014. *Anti-Hyperglycemic Activity of Rutin in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats: An Effect Mediated through Cytokines, Antioxidants and Lipid Biomarkers*. India: Indian Journal of Experimental Biology. 52(7): 720–727.
- Noor, S., Zubair, M., Ahmad, J. 2015. *Diabetic Foot Ulcer - A Review on Pathophysiology, Classification and Microbial Etiology*. India: Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews. 9(3): 192–199.
- Patel, S., Srivastava, S., Singh, S. R., Singh, D. 2019. *Mechanistic insight into diabetes wounds: Pathogenesis, molecular targets and treatment strategies to pace wound healing*. Raiphur, India: Biomedicine & Pharmacotherapy. vol. 112.
- Samirana, P. O., Leliqia, N. P. E., Ariantari, N. P. 2014. *TLC-Densitometer Profile and Antiulcer Activity Assay Of Ethanol Extract Of Binahong Leaves (Anredera Scandens (L.) Moq.) In Sprague Dawley Strain Male Rats*. *The International Conference Pharmaceutical Care*. Page: 63-71
- Shenoy, S., Sukesh, M. S. Vinod, Shruthi, M. Amberkar, and A. Arul. 2012. *Effect of Ethanolic Extract of Plectranthus Amboinicus Leaf on Healing of Burn Wound in Sprague Dawley Rats*. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology. Vol. 3(3): 1-2.
- Tan, W. S., Arulselvan, P., Ng, S., Taib, C. N. M., Sarian, M. N., Fakurazi, S. 2019. *Improvement of diabetes wound healing by topical application of Vicenin-2 hydrocolloid film on Sprague Dawley rats*. Selangor: BMC Complementary and Alternative Medicine. vol. 19(20).
- Testa, R., Bonfigli, A. R., Genovese, S., De Nigris, V., Ceriello, A. 2016. *The Possible Role of Flavonoids in the Prevention of Diabetic Complications*. Ancona, Italy: Nutrients 8(5): 1–13.
- Visnagri, A., Kandhare, A. D., Chakravarty, S., Ghosh, P., Bodhankar, S. L. 2014. *Hesperidin, a flavanoglycone attenuates experimental diabetic neuropathy via modulation of cellular and biochemical marker to improve nerve functions*. Maharashtra, India: Pharmaceutical Biology. 52(7): 814–28.
- Yadnya-Putra, A. A. G. R., Samirana, P. O., Andhini, D. A. A. 2019. *Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Flavonoid Potensial Antioksidan dari Daun Binahong (Anredera scandens (L.) Moq.)*. Jimbaran: Jurnal Farmasi Udayana, Vol 8, No 2, 85-94
- Zhang, Z. Y., Sun, Y., Zheng, Y. D., He, W., Y. Y., Xie, Y. J., Feng, Z. X., Qiao, K. 2020. *A Biocompatible Bacterial Cellulose/Tannic Acid Composite with Antibacterial and Anti-Biofilm Activities for Biomedical Applications*. Beijing, China: Materials Science and Engineering C. 106 1-10.