

EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) SEBAGAI KANDIDAT TERAPI KOLITIS ULSERATIF PADA MENCIT YANG DIINDUKSI ASAM ASETAT 3 %

Melinda Prahesti^{1*}, Tri Fitri Yana Utami², Nikmah Nuur Rochmah³

¹²³ Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Al-Irsyad Cilacap, Jawa
Tengah, Indonesia

e-mail: 1melinda.prahesti81@gmail.com 2trifitriyana@mail.ugm.ac.id
3nikmah.nuur@gmail.com

ABSTRACT

*Ulcerative colitis can lead to reduced quality of life and CRC (colorectal cancer) can occur. Inflammatory Bowel Disease (IBD) is a chronic disease that occurs in the gastrointestinal tract, is in remission and relapses with the exact cause of which until now has not been clearly identified. Binahong leaf extract (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) has been shown to have an anti-inflammatory effect. The purpose of this study was to determine the effect of flavonoids from binahong leaf extract on colonic inflammatory conditions and behavioral disorders in mice under KU conditions induced by 3% acetic acid. The research method used is pure experimental research. Phytochemical screening on binahong leaves was carried out using a qualitative method. The test animals used were 30 male mice (*Mus Musculus*), divided into 6 groups randomly which were given different treatments. Normal group (Na CMC 1%), negative control group (3% acetic acid and 1% Na CMC), positive group (3% acetic acid and dexamethasone 2 mg/kg BW s.c), and binahong leaf extract dose of 0.728 mg, 1.456 mg, 2.912 mg, colonic conditions and behavioral tests were carried out from the beginning of induction to treatment. The results showed that In phytochemical screening, there are flavonoid compounds that have anti-inflammatory properties dan there was an effect of binahong leaves extract on KU conditions by testing the behavior of mice and the condition of the colon of mice. MBT and TST showed significantly different results and in colonic condition, there was weight gain, normal stool consistency, and no presence of blood.*

Keywords: *Ulcerative colitis, Binahong leaf extract, Acetic acid, Anti-inflammatory*

PENDAHULUAN

Kolitis ulseratif dapat menyebabkan mengurangi kualitas hidup dan dapat terjadinya KKR (Kanker kolorektal). *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) ialah penyakit inflamasi kronis yang terjadi didalam saluran cerna, bersifat remisi dan relaps dengan penyebab pasti yang sampai saat ini belum diketahui secara jelas. Secara garis besar IBD terdiri dari kolitis ulseratif (KU), penyakit *Crohn* (PC) dan bila sulit membedakan keduanya termasuk dalam kategori kolitis tak tentu [1].

Berdasarkan data internasional, kejadian IBD sekitar 2,2-14,3 kasus per 100.000 orang per tahun untuk kolitis ulseratif dan 3,1-14,6 kasus per 100.000 orang per tahun untuk penyakit *Crohn*. Di Indonesia data profil kolitis ulseratif belum banyak disusun dan belum adanya studi epidemiologi mengenai penyakit kolitis ulseratif. Endoskopi RSUD Dr. Soetomo Surabaya periode Januari 2018 - Desember 2019 dari hasil diagnosis paling banyak oleh konsultan gastroenterologi dan hepatologi adalah IBD sebanyak 58 pasien (51,3%) didapat kolitis kronis non spesifik sebanyak (80,5%) [1].

Peradangan yang terjadi pada kondisi kolitis ulseratif yang terus berlangsung pada mukosa usus tersebut dapat memicu timbulnya banyak radikal bebas seperti *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen intermediates* (RNI). ROS akan menimbulkan terjadi stres oksidatif yang merupakan faktor patogen penting dalam kolitis ulseratif dan menyebabkan ketidakseimbangan anantara zat oksidan dan antioksidan [2].

Flavonoid termasuk dalam senyawa dengan golongan fenol dan polifenol yang mempunyai aktivitas antioksidan. Flavonoid berperan sebagai antiradikal bebas dengan menekan radikal bebas atau ROS, baik dengan cara menghambat enzim atau perkelatan ion logam yang berhubungan dengan produksi radikal bebas melalui penurunan radikal bebas [3].

Berdasarkan uraian diatas, Belum terdapat penelitian tentang aktivitas efek antiinflamasi ekstrak daun binahong yang lebih spesifik pada penyakit KU jika dilihat efek pada produksi inflamasi sitokin dan pengaruhnya terhadap neuroinflamasi pada kondisi KU diinduksi asam asetat 3%. Maka, perlu dilakukan adanya penelitian untuk mengetahui pengaruh daun binahong pada mencit kondisi KU yang diinduksi asam asetat 3%.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah jenis penelitian eksperimental murni yang dilakukan dilaboratorium.

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pisau, *rotary evaporator*, penangas air, lemari pendingin, kandang mencit, *syringe*, sonde oral, kanula iv 22G, seperangkat alat bedah, mikropipet, timbangan digital, oven, dan seperangkat alat gelas (*pyrex*), timbangan digital, *waterbath*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu Daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis), etanol 70%, Na.CMC 1%, asam asetat 3 %, larutan Natrium Klorida (NaCl) 0,9%, bahan untuk ekstraksi, HCl pekat, reagen *dragendorff*, HCl 2N, FeCl₃, aquadest, Mencit (*Mus Musculus*) jantan

2.2. Jalannya Penelitian

2.2.1. Determinasi tanaman (Daun Binahong)

Determinasi daun binahong dilakukan di Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto.

2.2.2. Preparasi Sampel Daun Binahong

Pembuatan ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) yang digunakan pada penelitian ini dengan daun binahong didapatkan dari Desa Purwodadi, Patimuan. Pengambilan sampel daun binahong dilakukan secara acak daun yang muda dan tua yang berwarna hijau segar. Setelah pengambilan daun binahong maka disortir daun lalu dilanjutkan proses pencucian.

Metode maserasi yang digunakan dalam ekstrak binahong, dengan daun sebagai bagian tumbuhan yang dimanfaatkan. Daun keringkan dalam oven dengan suhu 50°C. Setelah dikeringkan dipotong potong lebih kecil agar senyawa lebih mudah larut, direndam dengan pelarut yaitu etanol 70% selama 3 hari. Terlarutnya senyawa aktif ditandai dengan adanya pemisahan antara etanol dan daun binahong dalam bentuk cair, hal ini menandakan bahwa pelarut tidak dapat mengikat senyawa aktif.

2.2.3. Analisis fitokimia ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis)

Uji skrining fitokimia dengan reagen untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang ada didalam ekstrak etanol daun binahong. Pengujian fitokimia terhadap golongan senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin.

a. Flavanoid

Ekstrak daun binahong 1 ml ditambahkan dengan magnesium secukupnya kemudian ditambahkan 10 tetes HCl pekat. Hasil positif apabila membentuk warna hitam kemerah, kuning dan jingga menunjukkan adanya flavonoid [4].

b. Alkaloid

Ekstrak 1 ml ditambah 1 ml HCl 2N dan 9 ml aquadest kemudian panaskan ± 2 menit, ditambah pereaksi *Dragendorff*. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuk endapan, terbentuk warna coklat kemerahan atau jingga kemerahan [5].

Ekstrak daun binahong 1 ml ditambah dengan 10 ml air panas, kemudian ditetesi dengan menggunakan FeCl_3 . Hasil positif menunjukkan dengan perubahan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman [6].

c. Saponin

Ekstrak daun binahong 1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambah 1 ml air panas kemudian dikocok selama 10 menit lalu ditambah 1 ml HCL 2N. Hasil positif menunjukkan terbentuknya buih putih yang stabil [5].

2.2.4. Perlakuan Hewan Uji

Sebelum perlakuan, mencit (*Mus Musculus*) diadaptasikan terhadap lingkungan dan makanan selama 7 hari. Mencit yang digunakan yaitu galur balb-c, mencit jantan umur 12-14 minggu dengan bobot mencit antara 30 gram berjumlah 30 ekor yang diperoleh dari Laboratorium Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Mencit ditempatkan pada kandang yang sama dengan kondisi yang dikendalikan pada suhu 23 ± 2 °C dan kelembaban 50 – 70%, satu kandang berisikan 5 ekor mencit yang sudah dipisahkan sesuai kelompok perlakuan (Minaiyan *et al.*, 2014).

2.2.5. Induksi Kolitis Ulseratif (KU) dengan Asam Asetat 3 %

Sebelum dilakukan induksi KU dengan asam asetat 3 %, dibuat larutan asam asetat 3 % dengan menyiapkan 2 ml asam asetat kemudian dilarutkan dalam saline 0,9% sebanyak 100 ml. Mencit dipuasakan selama 24 jam sebelum dilakukan induksi. Dilakukan anestesi dengan ketamin dengan dosis 100 mg/kg intraperitoneal, kemudian 200 μL asam asetat 3 % diberikan melalui intrarektal menggunakan kanula yang dimasukkan melalui anus sepanjang 3 cm dan asam asetat diinjeksikan secara perlahan dan hati – hati. Sebelum mengeluarkan kanula, mencit dijaga dalam posisi kepala menghadap ke bawah selama 30 detik untuk mencegah larutan menyebar. Induksi asam asetat 3% dilakukan dengan 1 kali induksi, kemudian dilakukan pengamatan 5 hari pasca pemberian asam asetat 3 %.

2.2.6. Pembagian Kelompok Perlakuan

Pembagian kelompok perlakuan sampel ekstrak daun binahong. Mencit (*Mus Musculus*) dipilih secara acak kemudian dikelompokkan menjadi 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 mencit, kelompok hewan meliputi:

- Kelompok 1 (normal): mencit yang diberikan Na CMC 1% intrakolon sebagai placebo selama 7 hari tanpa induksi asam asetat.
- Kelompok 2 (Kontrol negatif): mencit yang diinduksi asam asetat 3 % intrakolon kemudian diberikan Na CMC 1% intrakolon selama 7 hari atau sampai tanda-tanda kolitis ulseratif.
- Kontrol 3 (Kontrol positif) : mencit yang diinduksi asam asetat 3 % intrakolon kemudian diberikan dexametason 2 mg/kg BB s.c selama 7 hari
- Kelompok 4: mencit yang diinduksi asam asetat 3 % intrakolon kemudian diberikan ekstrak daun binahong dosis 0,728 mg intragastrik selama 7 hari.
- Kelompok 5: mencit yang diinduksi asam asetat 3 % intrakolon kemudian diberikan ekstrak daun binahong dengan dosis 1,456 mg intragastrik selama 7 hari.
- Kelompok 6: mencit yang diinduksi asam asetat 3 % intrakolon kemudian diberikan ekstrak daun binahong dengan dosis 2,912 mg intragastrik selama 7 hari.

2.2.7. Tes Perilaku

a. Marble Burying Test (MBT)

Tes ini dilakukan didalam kotak persegi (38 x 32 x 28 cm) berisi 5 cm lapisan serbuk gergaji di lantai dan 25 kelereng kaca (diameter 1,5 cm) berjarak sama. Satu jam sebelum tes hewan dibiarkan tidak terganggu di ruang percobaan. Tes berlangsung selama 30 menit dan, segera setelah itu, hewan-hewan itu diambil dari kotak dan hitung kelereng yang terkubur Hanya kelereng yang memiliki setidaknya dua pertiga dari superfisinya ditutupi dengan serbuk gergaji dianggap terkubur [7].

b. Tail Suspension Test (TST)

Ekor mencit dijepit sekitar 1 cm dari ujung ekor dengan penjepit, kemudian digantung terbalik sekitar 15 cm dari tanah. Pada tes *Tail Suspension Test* (TST) mencit digantung dengan ekornya selama 5 menit menghitung adanya waktu imobilitas yang terjadi [8].

2.2.8. Evaluasi Kondisi Kolitis Ulseratif (KU)

Indeks aktivitas penyakit dinilai dengan skoring aktivitas KU yang dilakukan pada setiap kelompok selama periode perlakuan meliputi bobot badan, konsistensi feses, dan keberadaan darah pada feses [9]. Skor untuk setiap parameter dijumlahkan untuk menghasilkan skor total dan dibandingkan dengan tiap kelompok perlakuan untuk mengetahui tingkat keparahan KU [10].

Tabel I. Skoring Indeks Aktivitas KU

Skor	Penurunan Berat Badan (%)	Konsistensi Feses	Keberadaan Darah pada Feses
0	<1	Normal	Negatif
1	1 – 5	<i>Loose stools</i>	Negatif
2	5 – 10	<i>Loose stools</i>	Positif
3	10 – 15	Diare	Positif

Sumber: [9].

2.2.9. Pengumpulan Penelitian

Teknik pengumpulan data dari penelitian ini dilakukan dengan mencatat pelaksanaan penelitian dengan *logbook*

2.3. Analisis Data

Analisa data statistika bertujuan untuk mengetahui pengaruh aktivitas Ekstrak daun binahong sebagai kandidat terapi kolitis ulseratif pada mencit yang diinduksi asam asetat 3 % dengan efek pada kondisi kolon dan gangguan perilaku. Analisis data yang digunakan pada penelitian ini yaitu menggunakan metode *one-way ANOVA*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil Ekstrak

Hasil ekstrak daun binahong dengan berat simplisia 300 gram, dengan pelarut etanol 70% terapat berat ekstrak 37 gram dan rendemen 12,3%.

3.2. Skrining fitokimia

Tabel II. Skrining Fitokimia

Pemeriksaan	Pereaksi	Hasil	Hasil	Standar warna
Flavonoid	HCl pekat + Mg	+	Coklat kemerahan	Hitam kemerahan, kuning, jingga
Alkaloid	HCl 2N + <i>dragendroff</i>	+	Endapan dan berwarna jingga kemerahan	Endapan dan berwarna coklat kemerahan atau jingga kemerahan
Tanin	Air panas + FeCl ₃	+	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman
saponin	Air panas + HCl digojoj	+	Buih	Buih putih stabil

Keterangan :

(+) = Terdeteksi mengandung senyawa metabolit sekunder
(-) = Terdeteksi tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan hasil skrining fitokimia diatas menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin karena adanya suatu reaksi dari pereaksi yang dicampurkan

3.1. Evaluasi Kondisi KU

Evaluasi Kondisi Kolitis Ulseratif (KU) dengan Indeks aktivitas penyakit KU dihitung dari gabungan skoring penurunan berat badan, konsistensi feses, dan keberadaan darah pada feses selama 7 hari perlakuan Evaluasi Kondisi KU untuk mengetahui potensi antikolitis dari pemberian ekstrak daun binahong dengan perbedaan dosis. Perlakuan pasca induksi asam asetat 3% memiliki tingkat keparahan pada masing masing kelompok perlakuan kecuali kelompok normal. Perbedaan perbandingan masing masing kelompok menunjukkan perubahan yang terjadi pada konsistensi kolon yang semakin membaik terlihat pada skoring indeks aktivitas.

3.3. Tes Perilaku

Hasil uji tes TST (*Tail Suspension Test*) dan MBT (*Marble Burying Test*) perilaku kecemasan dengan *one way ANOVA* ditemukan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada masing masing kelompok.

KESIMPULAN

Kesimpulan pada penelitian ini yaitu adanya pengaruh flavonoid ekstrak daun binahong terhadap gangguan perilaku mencit kondisi KU yang diinduksi asam asetat 3% dengan menggunakan uji MBT dan TST pada kecemasan mencit dan adanya pengaruh flavonoid ekstrak daun binahong terhadap kondisi inflamasi kolon mencit kondisi KU yang diinduksi asam asetat 3% dengan menggunakan evaluasi kondisi KU dan pemeriksaan histopatologi mencit.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Nadya Wulandari Alshanti. (2020). *Studi Profil Kolonoskopi Dan Histopatologi Pasien Kolitis Di Rsud Dr. Soetomo Surabaya. Skripsi*, Universitas Airlangga Surabaya.
- [2] Tiono, H. (2016). The Preventive Effect of Fig Leaves's (*Ficus carica L.*) towards Colon Histopathological Feature and IL-6 Serum Level on Ulcerative Colitis Induced Mice. Vol 1(4), 326–340.
- [3] Samirana, P. O., Swastini, D. A., Putra, A. A. G. R. Y., Kusuma, I. P. W., Pratiwi, N. P. A. Y., & Setiawan, V. A. (2020). Profil bioautografi dan uji penangkap radikal 2,2-difenil-1-pikrihidrazil oleh ekstrak etanol daun binahong (*anredera scandens (l.) Moq.*) Dan fraksi-fraksinya. *Jurnal Kimia*, 14(1), 10. <https://doi.org/10.24843/jchem.2020.v14.i01.p03>.
- [4] Rumagit, H. M., Runtuwene, M. R. J., & Sudewi, S. (2015). Uji Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Spons *Lamellodysidea Herbacea*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(3), 183–192. <https://doi.org/10.35799/pha.4.2015.8858>.
- [5] Malik, A., Edward, F., & Waris, R. (2014). Flavonoid Total Ekstrak Metanolik Herba. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 1(1), 1–5.
- [6] Noer, S., Pratiwi, R. D., Gresinta, E., Biologi, P., & Teknik, F. (2017). *Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin , Saponin Dan Flavonoid Sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggu (Ruta angustifolia L .)*. 18, 19–29. <https://doi.org/10.20885/eksakta.vol18.iss1.art3>.
- [7] Nardo, M., Casarotto, P. C., Gomes, F. V., & Guimarães, F. S. (2014). Cannabidiol reverses the mCPP-induced increase in marble-burying behavior. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 28(5), 544–550. <https://doi.org/10.1111/fcp.12051>.
- [8] Nandi, A., Virmani, G., Barve, A., & Marathe, S. (2021). Db scorer: An open-source software for automated accurate analysis of rodent behavior in forced swim test and tail suspension test. *ENeuro*, 8(6), 1–10. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0305-21.2021>.
- [9] Jeengar, M. K., Thummuri, D., Magnusson, M., Naidu, V. G. M., & Uppugunduri, S. (2017). Uridine Ameliorates Dextran Sulfate Sodium (DSS)-Induced Colitis in Mice. *Scientific Reports*, 7(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04041-9>.
- [10] Tian, Z., Liu, J., Liao, M., Li, W., Zou, J., Han, X., Kuang, M., Shen, W., & Li, H. (2016). Beneficial Effects of Fecal Microbiota Transplantation on Ulcerative Colitis in Mice.

Digestive Diseases and Sciences, 61(8), 2262–2271. <https://doi.org/10.1007/s10620-016-4060-2>.