

Evaluasi *In Vitro* Viabilitas Sel Fibroblas Akibat Penambahan Larutan Binahong pada Kalsium Hidroksida sebagai Bahan Pelindung Pulpa

Catur Septommy^{*1}, Venna Verdania Lhea Khrisna², Dyah Noviana Primasari³, Eka Resti Efrata⁴, Devy Ratriana Amiati⁵, Asa Karina⁶

^{1,3,4,6}Departemen Biomaterial, FKG, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, Indonesia

²Prodi S1 Kedokteran Gigi, FKG IIK Bhakti Wiyata Kediri, Indonesia

⁵Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, Indonesia

Email: ¹catur.septommy@iik.ac.id

Abstrak

Kalsium hidroksida $\text{Ca}(\text{OH})_2$ merupakan bahan pelindung pulpa dengan efek antibakteri tinggi, namun bahan ini masih memiliki kelemahan yaitu terdapat hambatan ikatan antara kristal hidroksiapatit dan jaringan kolagen. Hal ini menyebabkan terjadinya ruang mikro antara bahan pelindung pulpa dengan jaringan dentin yang berpotensi terjadinya infeksi ulang. Respons inflamasi yang tertunda dan berkepanjangan akibat infeksi berulang menyebabkan nekrosis pulpa. Fibroblas pulpa dengan makrofag secara aktif mempengaruhi diferensiasi makrofag dari M1 (pro-inflamasi) ke M2 (anti-inflamasi). Daun binahong secara tradisional dipakai sebagai obat luka karena memiliki sifat antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh penambahan larutan binahong pada $\text{Ca}(\text{OH})_2$ terhadap viabilitas fibroblas selama 24 jam inkubasi. Uji viabilitas fibroblas BHK-21 dilakukan menggunakan metode MTT assay selama 24 jam dengan lima kelompok perlakuan (0%, 3%, 5%, 10%, dan 15%) binahong. OD (*Optical Density*) dari ELISA reader digunakan untuk menghitung jumlah sel fibroblas yang hidup. Kelompok $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dengan 10–15% binahong menunjukkan peningkatan viabilitas sel hingga 129,8–142,8% dibanding kontrol ($p < 0,05$) dan pada *post hoc test* kedua kelompok (10% dan 15%) tersebut memiliki perbedaan tidak bermakna ($\alpha > 0,05$). Larutan binahong pada kalsium hidroksida mampu meningkatkan jumlah sel fibroblas dalam inkubasi 24 jam. Penambahan ekstrak binahong meningkatkan viabilitas fibroblas sehingga berpotensi mengurangi sitotoksitas $\text{Ca}(\text{OH})_2$ sebagai bahan pelindung pulpa

Kata Kunci: Antiinflamasi, Binahong, Kalsium Hidroksida, Viabilitas Fibroblas

Abstract

Calcium hydroxide ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) is a pulp protective material known for its strong antibacterial effects. However, it has a significant limitation: it creates a barrier between hydroxyapatite crystals and collagen tissue. This results in microspaces between the pulp protective material and the dentin tissue, which can lead to reinfection. A delayed and prolonged inflammatory response caused by recurrent infections may ultimately result in pulp necrosis. Pulp fibroblasts, in conjunction with macrophages, play a crucial role in influencing the differentiation of macrophages from the pro-inflammatory to the anti-inflammatory. Binahong leaves have been traditionally used for their wound healing properties, thanks to their anti-inflammatory effects. This study aims to evaluate the effect of adding a binahong solution to $\text{Ca}(\text{OH})_2$ on fibroblast viability over a 24-hour incubation period. The viability of BHK-21 fibroblasts was assessed using the MTT assay, with five treatment groups (0%, 3%, 5%, 10%, and 15%) of binahong. The optical density measured with an ELISA reader was used to calculate the number of living fibroblast cells. The results showed that the group treated with $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and 10-15% binahong exhibited an increase in cell viability of up to 129.8-142.8% compared to the control group ($\alpha < 0.05$). Additionally, in the *post hoc test*, the groups with 10% and 15% binahong did not show a significant difference ($\alpha > 0.05$). The addition of binahong solution to $\text{Ca}(\text{OH})_2$ effectively increased the number of fibroblast cells during the 24-hour incubation period. This enhancement in fibroblast viability may help reduce the cytotoxicity of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ as a pulp protective material.

Keywords: Antiinflammatory, Binahong, Calcium Hydroxide, Fibroblast Viability

1. PENDAHULUAN

Bahan pelindung pulpa menjadi salah satu bahan kedokteran gigi yang berfungsi untuk menjaga pulpa dalam kondisi sehat akibat kerusakan dentin dengan kondisi jaringan pulpa terbuka. Bahan ideal untuk menutup pulpa harus memenuhi beberapa kriteria, di antaranya mampu mempertahankan vitalitas pulpa, merangsang pembentukan dentin reparatif, dan memiliki sifat bakterisidal atau bakteriostatik. Dentin reparatif terbentuk sebagai respons terhadap trauma atau karies, yang berfungsi sebagai lapisan pelindung untuk menjaga vitalitas pulpa dan fungsi gigi. Proses ini melibatkan interaksi kompleks antara sel induk pulpa gigi, respons imun, jalur sinyal, dan bahan biomaterial, proses tersebut memiliki tujuan memulihkan struktur dan fungsi dentin yang rusak. Perawatan karies gigi pada kondisi pulpa terbuka memerlukan bahan biomaterial yang biokompatibel dengan pulpa, salah satu bahan kalsium anorganik yang biokompatibel seperti kalsium hidroksida dan *mineral trioxide aggregate* (MTA) pada bagian dentin gigi yang rusak mampu mengganti dentin yang hilang dengan membentuk dentin reparatif (Zaugg et al., 2020).

Kalsium hidroksida telah diakui sebagai *gold standard*, karena bahan ini merupakan material paling efisien secara biaya dengan catatan keberhasilan klinis terpanjang dalam prosedur penutupan pulpa. Sistem kalsium hidroksida dua pasta dikembangkan untuk mengatasi kelemahan sistem satu pasta, seperti tidak mudah mengeras dan tingkat kelarutan yang tinggi. Namun demikian sistem dua pasta ini tetap saja larut dan hilang seiring waktu. Sistem dua pasta dilaporkan lebih toksik daripada sistem satu pasta karena komponen tambahan seperti *disalicylate*, penguat/plastikator. Oleh karena itu, diperlukan perbaikan sifat biologis dan fisik sistem berbasis kalsium hidroksida (Akin et al., 2024). *Tunnel defect* pada jembatan dentin akibat aplikasi kalsium hidroksida merupakan masalah utama yang dapat menyebabkan kegagalan perawatan pulpa karena memungkinkan infeksi ulang. Pengembangan material baru atau kombinasi $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dengan bahan lain menunjukkan potensi mengurangi insiden *tunnel defect* dan meningkatkan hasil klinis.

Kalsium hidroksida $\text{Ca}(\text{OH})_2$ adalah bubuk putih, tidak berbau dengan pH 12,5–12,8, pH yang tinggi ini memberikan efek antibakteri. Bahan ini diperkenalkan ke bidang kedokteran gigi sebagai bahan penutup pulpa pada tahun 1920 oleh B.W. Hermann. Seiring waktu, penggunaannya diperluas ke berbagai aplikasi, termasuk desinfeksi saluran akar, apeksifikasi, apeksogenesis, perbaikan perforasi, dan sebagainya. Bahan ini mendetoksifikasi endotoksin bakteri, memiliki efek antiinflamasi, dan merangsang penyembuhan jaringan periapikal. Beberapa penulis menyebutkan bahwa pH alkali dari $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dapat mengganggu ikatan antara kristal hidroksiapatit dan jaringan kolagen melalui sterilisasi, pelepasan, atau perusakan proteoglikan dan protein asam, yang selanjutnya berdampak pada peningkatan kerentanan terhadap terjadinya kerusakan. Bahan ini tidak melekat pada dentin, juga tidak secara konsisten merangsang terjadinya diferensiasi odontoblas, dan bersifat sitotoksik dalam kultur sel. Dilaporkan bahwa jembatan dentin yang terbentuk oleh $\text{Ca}(\text{OH})_2$ seringkali mengalami kegagalan dalam menutup jaringan pulpa di bawahnya sehingga rentan terhadap infeksi akibat kebocoran mikro (Aker et al., 2023; Best et al., 2021).

Ruang mikro pada bahan pelindung pulpa akan berpotensi terjadi infeksi ulang karena bakteri. Sel pada jaringan pulpa akan merespon endotoksin bakteri, seperti lipopolisakarida (LPS). Makrofag pada pulpa secara spesifik akan melepaskan *tumor necrosis factor α* (TNF- α). Sejumlah bukti menunjukkan bahwa TNF- α bertanggung jawab dalam mempertahankan kemotaksis sel fibroblas dan sel inflamasi. Sitokin inflamasi, seperti TNF- α dan interleukin akan berperan krusial dalam 48 jam pertama di awal penyembuhan jaringan pulpa secara normal. Sitokin ini tidak hanya menarik sel inflamasi dan sel punca/progenitor, tetapi juga memicu serangkaian peristiwa yang mengarah pada regenerasi jaringan, pembentukan dentin reparatif. Penggunaan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ selama 30 hari pada perawatan saluran akar menunjukkan adanya penurunan pada semua tingkat sitokin proinflamasi, hal ini didukung oleh studi terdahulu menunjukkan bahwa pengobatan intrakanal berbasis $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dapat mencegah peningkatan jumlah sitokin proinflamasi pada jaringan periapikal (Barbosa-Ribeiro et al., 2019; Ghadah Abdulrahman et al., 2024). Inflamasi kronis bisa terjadi bila sitokin proinflamasi oleh makrofag M1 terus meningkat hingga hari ke-7 hal ini menunjukkan bahwa respons inflamasi yang tertunda dan berkepanjangan (Plum et al., 2025).

Fibroblas pulpa berinteraksi dengan makrofag secara aktif untuk mempengaruhi diferensiasi makrofag dari M1 ke M2 dan hal ini sangat bergantung pada pengaruh fibroblas pulpa terhadap cedera atau infeksi bakteri. Makrofag M1 berperan dalam pertahanan *host* terhadap patogen dengan mensekresikan sitokin proinflamasi, sedangkan makrofag M2 berkontribusi pada perbaikan jaringan dengan memproduksi sitokin antiinflamasi (Fournis et al., 2021). Bahan yang bersifat antiinflamasi dapat menekan sitokin proinflamasi sehingga dapat segera menginduksi sitokin anti-nflamasi untuk perbaikan jaringan yang rusak. Daun binahong secara tradisional dipakai sebagai obat luka. Aktivitas yang terdapat dalam daun binahong adalah antioksidan dan antiinflamasi. Aktivitas ini terjadi karena kandungan flavonoid, alkaloid, dan triterpene. Salep binahong dapat mengurangi peradangan sel dan meningkatkan jumlah sel fibroblas (Sri Sumartiningsih, 2009; Tedjakusuma & Lo, 2022). Kandungan flavonoid, alkaloid, dan triterpene pada tanaman telah terbukti memiliki efek antiinflamasi yang signifikan dan berperan dalam peningkatan jumlah serta aktivitas fibroblas, yang penting untuk proses penyembuhan luka dan regenerasi jaringan. Flavonoid meningkatkan produksi kolagen dan matriks ekstraseluler melalui stimulasi faktor pertumbuhan. Alkaloid mempromosikan apoptosis fibroblas abnormal, sehingga mencegah fibrosis berlebihan. Triterpenoid berperan mendukung migrasi dan proliferasi fibroblas, serta mempercepat fase proliferaatif pada penyembuhan luka.

Kombinasi bahan antinflamasi dari daun binahong pada Ca(OH)_2 bertujuan untuk meningkatkan aktifitas antiinflamasi sehingga dapat mempercepat penyembuhan jaringan pulpa yang meradang karena dentin gigi yang rusak. Kehidupan sel fibroblas pada jaringan pulpa yang terinflamasi selama proses penyembuhan menjadi salah satu parameter penyembuhan pulpa untuk pembentukan dentin yang rusak. Evaluasi toksisitas sel selama periode 24 jam merupakan pendekatan standar dalam toksikologi untuk mengevaluasi efek akut karena paparan bahan kimia, nanopartikel, racun lingkungan, dan obat-obatan pada berbagai jenis sel. Studi viabilitas ini membantu mengidentifikasi toksisitas sel yang bergantung pada dosis, mekanisme kerusakan sel, dan perbedaan sensitivitas di antara berbagai jenis sel. Penelitian yang membahas kombinasi Ca(OH)_2 dengan larutan binahong terhadap viabilitas fibroblas secara *in vitro* belum banyak ditemukan. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh penambahan larutan binahong pada kalsium hidroksida terhadap viabilitas sel fibroblas BHK-21 menggunakan metode MTT assay selama 24 jam inkubasi.

2. METODE

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorium dengan rancangan *post-test only control group design*. Uji viabilitas fibroblas dari *baby hamster kidney-21* (BHK-21) dilakukan dengan *Microculture Tetrazolium Technique* (MTT) assay pada inkubasi 24 jam. Pada tabel 3 pembagian kelompok perlakuan adalah sebagai berikut; Kelompok I yaitu media dengan 50 μl suspensi sel BHK-21 dan bahan uji kalsium hidroksida (pro-Analisa Merck Germany) tanpa larutan binahong. Kelompok II yaitu media dengan 50 μl suspensi sel BHK-21 dan bahan uji (kalsium hidroksida dan larutan Binahong 3%). Kelompok III yaitu media dengan 50 μl suspensi sel BHK-21 dan bahan uji (kalsium hidroksida dan larutan Binahong 5%). Kelompok IV yaitu media dengan 50 μl suspensi sel BHK-21 dan bahan uji (kalsium hidroksida dan larutan Binahong 10%). Kelompok V yaitu media dengan dengan 50 μl suspensi sel BHK-21 dan bahan uji (kalsium hidroksida dan larutan Binahong 15%). Kelompok kontrol sel yaitu media dengan dengan 50 μl suspensi sel BHK-21 tanpa bahan uji.

Daun binahong (UPT Laboratorium *Herbal Materia Medica*, Batu-Jawa Timur) dipetik dengan menggunakan *leaf index colour* no.4. Daun dicuci bersih, dan dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C , 100 gram simplisia kering dihaluskan, selanjutnya bubuk simplisia disaring sampai no. 80-100 *mesh* untuk mendapatkan serbuk kering yang halus. Ekstraksi Binahong dibuat dengan metode maserasi sederhana, konsentrasi larutan binahong dibuat dengan volume 100 ml setiap konsentrasi dengan mengikuti tabel 1. Perendaman simplisia dalam pelarut aquades selama 1 jam dan dilanjutkan dengan penyaringan menggunakan kertas saring (*whatman* no.1). Larutan binahong hasil penyaringan dicampur dengan kalsium hidroksida (pro-analisa) mengikuti tabel 2 dengan perbandingan (1:1) sesuai dengan bahan uji kelompok masing-masing yang akan dimasukkan ke *Minimal Essential Media* (MEM). Bahan uji yang sudah *setting* disterilkan terlebih dahulu sebelum ke media MEM.

Tabel 1. Formulasi pembuatan larutan binahong dengan metode maserasi (B/V)

Konsentrasi (%)	Berat Simplisia (mg)	Volume Aquades (ml)
0	0	100
3	3	97
5	5	95
10	10	90
15	15	85

Uji toksisitas bahan uji dimulai dengan membuat kontaminasi (MEM) dengan bahan uji (A,B,C,D,E) yang sudah *setting* dan steril. Bahan uji digerus terlebih dahulu dan dikelompokkan masing-masing sesuai dengan tabel 2. Bubuk bahan uji yang telah digerus diambil 1 mg pada tabung *ependorf* ditambah 1 ml MEM. Tabung *ependorf* MEM dengan bahan uji disimpan pada suhu kamar selama 24 jam. Mikroplat dibagi menjadi 6 kelompok diberi suspensi sel BHK-21 (*cell confluency*) hasil kultur sel sebanyak (50 µl/sumuran). Setiap kelompok diberi 6 sumuran sebagai pengulangan sampel. 50 µl media MEM yang sudah dikontaminasi sebelumnya dimasukkan ke setiap sumuran yang sudah berisi 50 µl suspensi sel BHK-21. Mikroplat diinkubasi dalam inkubator 37°C selama 24 jam untuk kondisi pertumbuhan sel.

Tabel 2. Formulasi pembuatan bahan uji Ca(OH)₂ dengan binahong dengan perbandingan (1:1)

Jenis Bahan Uji	Konsentrasi Larutan Binahong (%)	Berat bubuk Ca(OH) ₂ (mg)	Berat Larutan (mg)
A	0	1	1
B	3	1	1
C	5	1	1
D	10	1	1
E	15	1	1

Tabel 3. Pembagian Kelompok Perlakuan Uji Viabilitas Sel BHK 21 akibat Penambahan Kalsium Hidroksida dengan Konsentrasi Larutan Binahong yang Berbeda

Kelompok	Jumlah suspensi sel BHK-21 /sumuran	Media Perlakuan/sumuran
Kontrol sel	50 µl	50 µl MEM tanpa bahan uji
(I) Ca(OH) ₂ + 0% Binahong	50 µl	50 µl (MEM+bahan uji A)
(II) Ca(OH) ₂ + 3% Binahong	50 µl	50 µl (MEM+bahan uji B)
(III) Ca(OH) ₂ + 5% Binahong	50 µl	50 µl (MEM+bahan uji C)
(IV) Ca(OH) ₂ +10% Binahong	50 µl	50 µl (MEM+bahan uji D)
(V) Ca(OH) ₂ + 15% Binahong	50 µl	50 µl (MEM+bahan uji E)

PBS (*Phosphate Buffered Saline*) digunakan untuk membilas tabung *ependorf* setelah inkubasi 24 jam. Senyawa MTT 0,2 mg/ml sebanyak 20 µl ditambahkan ke tabung *Eppendorf* dan diinkubasi kembali dengan suhu 37°C selama 3 jam. Untuk melarutkan warna dari MTT sel dilakukan pembilasan dengan menggunakan bahan dimetil sulfoksida (DMSO) 100µg/ml. Senyawa berwarna *formazan* dibaca absorbansinya secara spektrofotometri dengan *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) reader pada panjang gelombang 540 nm. Nilai OD (Optical Density) diperoleh dari perhitungan terhadap jumlah sel fibroblas yang hidup. Persentase viabilitas sel diukur dengan rumus persamaan (1) :

$$\%ViabilitasSel = \frac{OD_{Perlakuan}}{OD_{KontrolSel}} \times 100 \quad (1)$$

% viabilitas sel = persentase jumlah kehidupan sel setelah di uji

OD Perlakuan = Nilai OD formazan setiap sampel pada masing-masing kelompok

OD Kontrol Sel = Nilai OD formazan formazan pada rata-rata kontrol sel

Data yang dihasilkan dari penelitian berupa jumlah sel fibroblas yang telah diberi perlakuan dan dihitung persentase sel hidup menggunakan rumus viabilitas. Proses pengolahan data dengan menggunakan *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS). Data dari masing-masing pemeriksaan

dianalisis secara statistik dengan tingkat signifikansi 95% ($p < 0.05$), Hasil perhitungan viabilitas sel BHK-21 dari masing-masing kelompok perlakuan dianalisis menggunakan uji ANOVA satu arah dengan uji lanjut Tukey HSD pada taraf signifikansi 0,05.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan tabel 4 dan 6 kelompok Ca(OH)_2 dengan larutan binahong 10% dan 15% memiliki nilai viabilitas yang lebih tinggi dibandingkan kelompok lainnya, dan kedua kelompok tersebut memiliki perbedaan tidak bermakna ($\alpha > 0,05$). Kelompok perlakuan tanpa larutan binahong menunjukkan viabilitas sel yang paling rendah dibandingkan kelompok lainnya. Sebagaimana terlihat pada tabel 4, kelompok perlakuan dengan 10% dan 15% binahong menunjukkan viabilitas sel BHK-21 tertinggi dan tidak berbeda signifikan antar dua kelompok tersebut. Viabilitas sel BHK-21 yang terendah terdapat pada kelompok dengan perlakuan kalsium hidroksida tanpa penambahan larutan binahong. Nilai terendah pada kalsium hidroksida tersebut tidak memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol sel. Kalsium hidroksida dapat menurunkan viabilitas dan menyebabkan kematian sel fibroblas secara dosis bergantung pada konsentrasinya. Berdasarkan hasil penelitian, Ca(OH)_2 dapat menurunkan viabilitas fibroblas secara signifikan pada konsentrasi $\geq 62,5 \mu\text{g/ml}$, dengan penurunan viabilitas menjadi 77,6% ($62,5 \mu\text{g/ml}$), 56,2% ($125 \mu\text{g/ml}$), dan 49,5% ($250 \mu\text{g/ml}$) dibanding kontrol (99,8%), hal ini disebabkan karena toksisitas Ca(OH)_2 yang dikaitkan dengan kandungan pH-nya yang tinggi dan ion hidroksil yang dilepaskan sehingga dapat menyebabkan nekrosis sel dan apoptosis pada sel-sel di sekitarnya (Matin et al., 2015; Paramitta et al., 2015).

Tabel 4. Rerata Persentase dan Standart Deviasi (SD) Viabilitas Sel Fibroblas setelah Perlakuan Pemberian Kalsium Hidroksida dengan Larutan Binahong dengan Inkubasi 24 jam

Kelompok perlakuan	Rata-rata (%)	SD
Kontrol sel	64.00	8.83
Ca(OH)_2 + 0% Binahong	52.40	8.73
Ca(OH)_2 + 3% Binahong	91.80	13.98
Ca(OH)_2 + 5% Binahong	116.80	13.48
Ca(OH)_2 + 10% Binahong	129.80	16.70
Ca(OH)_2 + 15% Binahong	142.80	17.97

Tabel 5. Hasil Uji Beda Rerata (Anova) Viabilitas Sel Fibroblas setelah Perlakuan Pemberian Kalsium Hidroksida dengan Larutan Daun Binahong dengan Inkubasi 24 jam

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	33150.800	5	6630.160	35.093	.000
Within Groups	4534.400	24	188.933		
Total	37685.200	29			

Tabel 6. Hasil *Post Hoc Tests* Rerata Viabilitas Sel Fibroblas setelah Perlakuan Pemberian Kalsium Hidroksida dengan Larutan Daun Binahong

Perlakuan	K Sel	0%	3%	5%	10%	15%
K Sel		1.000	.058	.000*	.000*	.000*
0%			.002*	.000*	.000*	.000*
3%				.125	.003*	.000*
5%					1.000	.095
10%						1.000
15%						

*(signifikansi $< 0,05$)

Binahong (*Anredera cordifolia*) mengandung berbagai senyawa kimia, termasuk terpenoid, steroid, glikosida, flavonoid, saponin, dan alkaloid yang memiliki karakteristik unik. Ciri khas yang paling jelas dari semua kelompok flavonoid adalah efek antioksidannya. Flavonoid dapat mengatur beberapa tahap peradangan dan memiliki potensi manfaat kesehatan dalam penyakit kronis. Selain sifat antioksidannya,

senyawa ini memiliki berbagai manfaat biologis. Obat herbal telah terbukti memiliki sifat anti-alergi dengan cara menghambat pelepasan histamin, leukotrien, sitokin, dan kemokin dari sel-sel inflamasi. Telah ditemukan bahwa penurunan kadar IgE sebelum dan setelah pemberian ekstrak binahong berbeda secara signifikan pada kelompok intranasal pada konsentrasi 2,5% (Widuri et al., 2025).

Pengikatan dan keterlibatan IgE dapat mempertahankan makrofag M1 dengan mempertahankan fungsi proinflamasi dan menghadirkan antigen secara konsisten. Makrofag tipe M1 lebih banyak memproduksi dan mengeluarkan sinyal proinflamasi seperti interleukin, yang akan membatasi proliferasi sel dan kemudian memicu kerusakan jaringan; sebaliknya, makrofag tipe M2 lebih banyak memproduksi sinyal yang berperan dalam fungsi perbaikan, membantu mengurangi peradangan dan mempercepat penyembuhan luka. Makrofag M1 yang terus-menerus menetap dan tidak beralih ke M2 akan menyebabkan peradangan berkepanjangan, sehingga mengakibatkan kerusakan jaringan, penyembuhan yang tertunda, dan perkembangan penyakit kronis (Luo et al., 2024; Pellizzari et al., 2019). Salep yang dibuat dari ekstrak etanol 7% dan 15% daun binahong memiliki efek penyembuhan pada luka yang baik, hal ini juga sesuai dengan penelitian lain yang menyebutkan bahwa maserasi daun binahong 10% dengan air memiliki pengaruh yang baik terhadap penutupan luka daripada kelompok kontrol lain yang menggunakan obat berbahan *non-herbal* (Kintoko et al., 2017; Suswidianoro et al., 2025).

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang mengkaji ekstrak binahong didapatkan beberapa temuan fitokimia, antioksidan dan anti jamur. Analisis fitokimia ekstrak etanol daun binahong mengungkapkan adanya profil senyawa yang meliputi flavonoid, tanin, saponin, dan steroid. Sementara itu, ekstrak metanol menunjukkan adanya senyawa saponin dan steroid. Potensi antioksidan, yang diukur menggunakan metode DPPH yang menggunakan 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari ekstrak binahong. Berdasarkan evaluasi antioksidannya, ekstrak etanol dan metanol daun binahong memiliki aktivitas antioksidan yang rendah. Hasil secara keseluruhan dari penelitian ini menunjukkan profil bioaktivitas yang beragam dari ekstrak daun binahong yang meliputi spektrum senyawa fitokimia, kemampuan antioksidan yang rendah, dan potensi antifungal yang signifikan terhadap *candida albicans*. Interaksi kompleks antara unsur-unsur ini dan efek biologisnya menghasilkan pemahaman yang mendalam tentang potensi ekstrak daun binahong sebagai agen alami dengan aplikasi yang beragam dalam konteks antioksidan dan *antifungal* (Sidhartha et al., 2024).

Ekstrak etanol daun binahong juga menunjukkan aktivitas antiinflamasi dalam uji sampel darah manusia. Ekstrak etanol daun binahong dengan konsentrasi 0,01%; 0,02%; 0,04%; dan 0,08% yang dicampur dengan sampel sel darah merah manusia dengan perbandingan (berat/volume), kondisi pencampuran dilakukan pada kondisi isotonik. Konsentrasi ekstrak binahong dengan 0,01% w/v menunjukkan kemampuannya untuk menghambat hemolisis sel darah merah. Hemolisis membran sel darah merah merupakan penyebab peradangan. Seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, ekstrak tersebut akan mampu menstabilkan membran sel darah merah terhadap hemolisis (Pratiwi et al., 2024).

Daun binahong mengandung senyawa fenolik, flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin, yang semuanya berkontribusi pada aktivitas antioksidan. Senyawa-senyawa ini menetralkan radikal bebas *reactive oxygen species* (ROS) dengan cara menyumbangkan elektron, menangkap radikal bebas, dan meningkatkan pertahanan antioksidan alami tubuh. Flavonoid seperti *quercetin* dan saponin khususnya dikenal karena kemampuannya memecah radikal hidroksil dan menghambat enzim yang mempromosikan kerusakan oksidatif. Kemampuannya untuk menetralkan radikal bebas (ROS) dapat membantu mencegah atau mengurangi risiko penyakit yang terkait dengan stres oksidatif dan peradangan kronis. Molekul sinyal yang diaktifkan oleh ROS adalah faktor transkripsi *nuklear kappa B* (NF- κ B). Aktivasi NF- κ B yang tidak terkendali pada sel dendritik dapat menyebabkan induksi sitokin yang mempromosikan diferensiasi sel T inflamasi yang dapat menyebabkan respons inflamasi dan autoimun respons (Nejabatkhsh Samimi et al., 2020; Siani et al., 2023). Konsentrasi gel ekstrak daun Binahong dengan konsentrasi 3% menunjukkan afinitas dalam meningkatkan proliferasi fibroblas. Tanaman Binahong mengandung berbagai metabolit sekunder yang berperan dalam proliferasi fibroblas, osteoblas, dan osteosit, sehingga mengoptimalkan penyembuhan luka. Dalam ekstrak daun Binahong terdapat kandungan saponin, yang dapat meningkatkan ekspresi TGF- β (*transforming growth factor*- β) untuk mengaktifkan fibroblas.

Fibroblas dan makrofag adalah jenis sel yang terdapat di semua jaringan. Fibroblas memainkan peran penting dalam menjaga struktur dan integritas jaringan. Fibroblas adalah sel struktural yang berperan penting dalam deposisi dan remodeling matriks ekstraseluler. Mereka merupakan jenis sel yang paling umum dalam jaringan ikat (kecuali sistem peredaran darah) dan ditemukan dalam berbagai bentuk di semua organ mamalia. Sel fibroblas berperan dalam menyusun komponen matriks ekstraseluler termasuk kolagen, proteoglikan, glikoprotein, dan glikosaminoglikan. Matriks ini bukanlah struktur yang statis dan terus-menerus diperbarui. Fungsi matriks harus dapat beradaptasi dengan perubahan lingkungan, Matriks ini harus dimodifikasi, dihancurkan, dan dibangun kembali. Makrofag berperan penting dalam proses pembaruan ini, dengan cara menghancurkan matriks ini melalui produksi protease, kathepsin, dan molekul lain (Franklin, 2021).

Sel fibroblas memiliki peran penting dalam mengatur peradangan pada pulpa. Kompleks jaringan dentin-pulpa melindungi dirinya dari cedera dengan memicu reaksi inflamasi dan menghilangkan bakteri. Sel fibroblas pada pulpa memfasilitasi pelepasan mediator proinflamasi, rekrutmen leukosit ke lokasi peradangan, dan modulasi aktivitas fagositik mereka. Fibroblas berperan sebagai sel penjaga dalam jaringan ikat, memproduksi mediator inflamasi sebagai respons terhadap berbagai mikroorganisme. Sel-sel ini mengenali patogen, memicu rekrutmen sel-sel inflamasi, dan mengekspresikan peptida antimikroba, sitokin proinflamasi, kemokin, dan faktor pertumbuhan, sehingga menunjukkan sifat-sifat imunologis yang mengatur respons imun bawaan. Sel fibroblas juga menjalankan fungsi-fungsi ini untuk menjaga homeostasis di dalam pulpa dan mendukung perbaikan serta regenerasi jaringan (Álvarez-Vásquez & Castañeda-Alvarado, 2022).

Sel fibroblas berperan dalam pembentukan dentin yang rusak oleh karena karies atau trauma. Viabilitas sel fibroblas sangat krusial untuk pembentukan dentin reparatif karena sel ini mampu menyusun komponen untuk meregenerasi melalui sekresi faktor pertumbuhan, pengaturan imun, dan dukungan angiogenesis. Beberapa bukti menunjukkan bahwa regenerasi pulpa dentin pada kasus kerusakan karies diatur secara lokal oleh molekul matriks ekstraseluler dentin atau oleh faktor pertumbuhan seperti *transforming growth factor* b1 (TGFb1) atau *basic fibroblast growth factor* (FGF-2). Hal ini dapat terjadi akibat pelepasan faktor pertumbuhan tersebut dari sel fibroblas pulpa dan sel endotel pada kasus kerusakan akibat trauma atau setelah interaksi sel pulpa dengan biomaterial. Menjaga kesehatan dan viabilitas fibroblas menjadi kunci keberhasilan terapi regeneratif pulpa dan dentin (Chmilewsky et al., 2014).

4. KESIMPULAN

Penambahan larutan binahong pada kalsium hidroksida mampu meningkatkan jumlah sel fibroblas dalam inkubasi 24 jam sebagai parameter untuk melihat toksisitas suatu bahan terhadap viabilitas sel. Sel fibroblas berperan penting pada inflamasi pada pulpa dan proses regenerasi dentin yang telah rusak.

DAFTAR PUSTAKA

- Akin, D., Atalayin Ozkaya, C., Armagan, G., Birim, D., Ates, M., & Tezel, H. (2024). Biological and physical properties of calcium hydroxide-based pulp-capping materials and their modifications. *Journal of Oral Science*, 66(2), 91–95. <https://doi.org/10.2334/josnurd.23-0288>
- Akter, R., Moral, M. A. A., & Asaduszaman, M. (2023). The Radiographic Outcome of Biodentine and Calcium Hydroxide as Indirect Pulp Capping Agent in the Management of Deep Caries. *International Journal of Medical Science, Volume 10*. <https://doi.org/10.14445/23939117/IJMS-V10I1P104>
- Álvarez-Vásquez, J. L., & Castañeda-Alvarado, C. P. (2022). Dental Pulp Fibroblast: A Star Cell. *Journal of Endodontics*, 48(8), 1005–1019. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2022.05.004>
- Barbosa-Ribeiro, M., Arruda-Vasconcelos, R., de-Jesus-Soares, A., Zaia, A. A., Ferraz, C. C. R., de Almeida, J. F. A., & Gomes, B. P. F. A. (2019). Effectiveness of calcium hydroxide-based intracanal medication on infectious/inflammatory contents in teeth with post-treatment apical periodontitis. *Clinical Oral Investigations*, 23(6), 2759–2766. <https://doi.org/10.1007/s00784-018-2719-0>

- Best, S., Ammons, C. L., Karunanayake, G. A., Saemundsson, S. R., & Tawil, P. Z. (2021). Outcome Assessment of Teeth with Necrotic Pulps and Apical Periodontitis Treated with Long-term Calcium Hydroxide. *Journal of Endodontics*, 47(1), 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.09.005>
- Chmielewsky, F., Jeanneau, C., Laurent, P., & About, I. (2014). Pulp Fibroblasts Synthesize Functional Complement Proteins Involved in Initiating Dentin–Pulp Regeneration. *The American Journal of Pathology*, 184(7), 1991–2000. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2014.04.003>
- Fournis, C. L., Jeanneau, C., Giraud, T., Karim, I. E., Lundy, F. T., & About, I. (2021). Fibroblasts Control Macrophage Differentiation during Pulp Inflammation. *Journal of Endodontics*, 47(9), 1427–1434. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2021.06.015>
- Franklin, R. A. (2021). Fibroblasts and macrophages: Collaborators in tissue homeostasis. *Immunological Reviews*, 302(1), 86–103. <https://doi.org/10.1111/imr.12989>
- Ghadah Abdulrahman, A.-Q., Endytiastuti, E., Ardhani, R., Sutardjo Rus Sudarso, I., Pidhatika, B., Fauzi, M. B., Susilowati, H., Kristanti, Y., & Handajani, J. (2024). Evaluating the Efficacy of Gelatin-Chitosan-Tetraethyl Orthosilicate Calcium Hydroxide Composite as a Dental Pulp Medicament on COX-2, PGP 9.5, TNF- α Expression and Neutrophil number. *F1000Research*, 13, 1258. <https://doi.org/10.12688/f1000research.156336.2>
- Kintoko, K., Karimatulhaji, H., Elfasyari, T. Y., Ihsan, E. A., Putra, T. A., Hariadi, P., Ariani, C., & Nurkhasanah, N. (2017). Effect of Diabetes Condition on Topical Treatment of Binahong Leaf Fraction in Wound Healing Process. *Traditional Medicine Journal*, 22(2), 103–110. <https://doi.org/10.22146/tradmedj.27921>
- Luo, M., Zhao, F., Cheng, H., Su, M., & Wang, Y. (2024). Macrophage polarization: An important role in inflammatory diseases. *Frontiers in Immunology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1352946>
- Matin, M. H., Jahromi, M. Z., Fesharaki, M., & Sharif, M. O. (2015). Cytotoxicity of Triple Antibiotic Paste and Calcium Hydroxide against Cultured Human Dental Pulp Fibroblasts. *Journal of Dental School*, 33(3), 196–204. <https://doi.org/10.22037/jds.v33i3.24702>
- Nejatbakhsh Samimi, L., Farhadi, E., Tahmasebi, M. N., Jamshidi, A., Sharafat Vaziri, A., & Mahmoudi, M. (2020). NF- κ B signaling in rheumatoid arthritis with focus on fibroblast-like synoviocytes. *Autoimmunity Highlights*, 11(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s13317-020-00135-z>
- Paramitta, V. A., Heni, T. H., & Susilowati, S. (2015). The Effect of Calcium Hydroxide on Fibroblast Cells Viability. *The Indonesian Journal of Dental Research*, 1(2), 105–108. <https://doi.org/10.22146/theindjdentres.9996>
- Pellizzari, G., Hoskin, C., Crescioli, S., Mele, S., Gotovina, J., Chiaruttini, G., Bianchini, R., Ilieva, K., Bax, H. J., Papa, S., Lacy, K. E., Jensen-Jarolim, E., Tsoka, S., Josephs, D. H., Spicer, J. F., & Karagiannis, S. N. (2019). IgE re-programs alternatively-activated human macrophages towards pro-inflammatory anti-tumoural states. *EBioMedicine*, 43, 67–81. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.03.080>
- Plum, M., Beier, J. P., & Ruhl, T. (2025). Delayed cutaneous wound healing in young and old female mice is associated with differential growth factor release but not inflammatory cytokine secretion. *Biogerontology*, 26(1), 37. <https://doi.org/10.1007/s10522-024-10179-7>
- Pratiwi, D. M. N., Yuliani, S. H., & Samirana, P. O. (2024). Studies on anti-inflammatory activity and wound-healing property of secondary metabolite of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis leaves: A review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2025.206872>
- Siani, A., Infante-Teixeira, L., d’Arcy, R., Roberts, I. V., El Mohtadi, F., Donno, R., & Tirelli, N. (2023). Polysulfide nanoparticles inhibit fibroblast-to-myofibroblast transition via extracellular ROS scavenging and have potential anti-fibrotic properties. *Biomaterials Advances*, 153, 213537. <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2023.213537>

- Sidhartha, E., Yang, J. J., Dimara, R. S. N., Rahmawati, F., & Purba, S. W. D. (2024). Phytochemical Screening, Antioxidant and Antifungal Activity Test of Binahong Leaf Extract (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *European Journal of Advanced Chemistry Research*, 5(1), 1–8. <https://doi.org/10.24018/ejchem.2024.5.1.151>
- Sri Sumartiningsih, -. (2009). *Pengaruh Pemberian Binahong (Anradera Cordifolia) Terhadap Sel Radang Dan Sel Fibroblast Pada Hematoma Regio Femoris Ventralis Rattus Norvegicus Strain wistar Jantan* [Thesis, Universitas Airlangga]. <http://lib.unair.ac.id>
- Suswidianoro, V., Pratiwi, M., Raykar, M. H., Safutri, W., & Putri, D. K. (2025). Comparison of binahong (*Anredera cordifolia*) (Ten. Steenis) and red betel (*Piper crocatum*) leaves ointment formulations toward length of laceration and bleeding time in rats. *Multidisciplinary Science Journal*, 7(3), 2025162–2025162. <https://doi.org/10.31893/multiscience.2025162>
- Tedjakusuma, F., & Lo, D. (2022). Functional properties of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis: A review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 998(1), 012051. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/998/1/012051>
- Widuri, A., Rianto, B. U. D., Indrawati, L. P. L., Heriyanto, D. S., & Febriansah, R. (2025). *Anredera cordifolia* Extract in Reducing Immunoglobulin E Expression in Wistar Rats Allergic Model. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 74–81. <https://doi.org/10.22146/ijp.11055>
- Zaugg, L. K., Banu, A., Walther, A. R., Chandrasekaran, D., Babb, R. C., Salzlechner, C., Hedegaard, M. A. B., Gentleman, E., & Sharpe, P. T. (2020). Translation Approach for Dentine Regeneration Using GSK-3 Antagonists. *Journal of Dental Research*, 99(5), 544–551. <https://doi.org/10.1177/0022034520908593>

Halaman Ini Dikosongkan