

Research Report

Pemberian Air Minum Alkali terhadap Peningkatan Ekspresi VEGF pada Radang Kronis

(Giving of Electrolyzed Reduced Alkaline Water (ERAW) to Increase VEGF Expression in Chronic Inflammation)

Ni Luh Desy Ayu Susilahati¹, Theresia Indah Budhy², Edhi Jularso²

¹Mahasiswa Program Sarjana Kedokteran Gigi

²Staff Departemen Patologi Mulut dan Maksilofasial
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga
Surabaya-Indonesia

ABSTRACT

Background. Chronic inflammation occurs when the lesion persist in the long period. If the inflammation untreated, it will refer to the pathological changes in the oral mucosa (gingival). VEGF reported increased during the chronic inflammation healing as a signaling protein in angiogenesis process. Electrolyzed Reduced Alkaline Water (ERAW) with an alkaline pH and antioxidant has the potential effect to accelerate the chronic inflammation healing. **Purpose.** The aim of this study was to know giving of Electrolyzed Reduced Alkaline Water (ERAW) in the chronic inflammation. **Method.** This research was a true experimental study. In the control and treatment group made an incision on the gingival labial and given 10% hydrogen peroxide. The control group was given aquadest water and the treatment group was given Electrolyzed Reduced Alkaline Water (ERAW) pH range 8.5 – 9 after third days, then sacrificed after 72 hours. **Result.** The mean of VEGF expression in the control group is 34.5 and the mean of VEGF expression in the treatment group is 89. **Conclusion.** Giving of Electrolyzed Reduced Alkaline Water (ERAW) pH range 8.5 – 9 increased the VEGF expression in chronic inflammation.

Keywords: Chronic inflammation, Electrolyzed Reduced Alkali Water (ERAW), VEGF Expression

ABSTRAK

Latar Belakang. Radang kronis terjadi ketika jejas menetap dalam jangka waktu yang lama. Apabila peradangan tidak diatasi akan merujuk terjadinya perubahan patologis pada mukosa rongga mulut (gingiva). VEGF dilaporkan meningkat pada masa penyembuhan radang kronis sebagai sinyal protein dalam proses angiogenesis. Salah satu bahan yang berpotensi untuk mempercepat penyembuhan radang kronis yaitu air minum alkali dengan kandungan pH basa dan daya antioksidan. **Tujuan.** Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui pemberian air minum alkali pada radang kronis. **Metode.** Penelitian ini merupakan *true eksperimental*. Pada kelompok kontrol dan perlakuan dibuat luka sayatan pada gingiva labial dengan aplikasi hidrogen peroksida 10%. Kelompok kontrol diberikan air aquadest dan kelompok perlakuan diberikan air minum alkali pH range 8,5 – 9 setelah hari ke-3, lalu dikorbankan setelah 72 jam. **Hasil.** Rerata jumlah ekspresi VEGF pada kelompok kontrol adalah 34,5 dan rerata jumlah ekspresi VEGF pada kelompok perlakuan adalah 89. **Simpulan.** Pemberian air minum alkali pH range 8,5 – 9 dapat meningkatkan ekspresi VEGF pada radang kronis.

Kata kunci : Radang kronis, Air minum alkali, Ekspresi VEGF

Korespondensi (*correspondence*): Ni Luh Desy Ayu Susilahati, Bagian Patologi Mulut dan Maksilofasial, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Jl. Mayjen. Prof. Dr. Moestopo No. 47, Kampus A, Jawa Timur 60132, Indonesia. E-mail: desyayusukma25@gmail.com

PENDAHULUAN

Radang adalah reaksi alamiah berupa respon vaskuler dan seluler dari jaringan tubuh sebagai reaksi terhadap adanya stimuli. Rangsangan atau iritasi akan menyebabkan munculnya respon neurogenik dan humoral.¹ Reaksi radang bertujuan untuk memperbaiki jaringan ketika mengalami proses kerusakan, pertahanan dari serangan mikroorganisme, perbaikan jaringan yang rusak, serta proses kesembuhan luka.² Radang yang melibatkan proses kerusakan dan perbaikan jaringan dalam waktu yang sama dikatakan sebagai radang kronis.³ Radang kronis terjadi ketika jejas menetap dalam jangka waktu yang lama.⁴ Salah satu faktor lokal yang sering menyebabkan radang kronis adalah hipoksia.⁵ Terjadi gangguan pada sel yang mengalami hipoksia, berupa penurunan produksi ATP, kerusakan mitokondria, dan akumulasi radikal bebas. Penurunan produksi ATP memicu kegagalan proses selular, seperti penurunan kemampuan penyimpanan glikogen dan akumulasi asam laktat yang mampu menurunkan pH selular.³

Keradangan yang tidak diatasi akan merujuk terjadinya perubahan patologis pada mukosa rongga mulut (gingiva) yang berhubungan dengan adanya mikroorganisme pada sulkus gingiva (gingivitis). Gingivitis yang telah mencapai tahap III (*establish gingivitis*) dan tahap IV (*advanced gingivitis*) termasuk dalam fase kronis.⁶ Menurut hasil survei kesehatan gigi dan mulut di Puskesmas Rangkah, Surabaya, Jawa Timur tahun 2015 dari total sampel 100 orang, didapatkan 2 pasien memiliki tingkat keparahan gingivitis yang buruk, 15 pasien memiliki tingkat sedang dan 83 pasien memiliki tingkat PBI yang baik.⁷ Di Asia & Afrika, prevalensi dan intensitas penyakit gigi dan mulut terlihat lebih tinggi daripada di Eropa, Amerika, dan Australia.

Penyakit Gigi dan Mulut di Indonesia menduduki urutan ke dua utama yang masih merupakan masalah di masyarakat.⁸ VEGF dilaporkan meningkat pada masa penyembuhan luka terutama dalam fase granulasi⁹ karena VEGF memiliki peranan penting sebagai sinyal protein dalam proses angiogenesis.¹⁰ Melihat hasil penelitian Frank dkk (1995), ekspresi VEGF meningkat dalam waktu 24 jam setelah luka terjadi dan kadar VEGF akan mencapai puncak pada hari ketiga dan keenam, kemudian akan mengalami penurunan setelah hari keenam.¹¹ Sehingga, VEGF mempunyai peran penting dalam proses angiogenesis dan penyembuhan luka kronis pada mukosa rongga mulut (gingiva) agar

penyakit gigi dan mulut (gingivitis) tidak mengalami peningkatan.

Air terelektrotonisasi dibagi menjadi dua berdasarkan pH, yaitu air dengan pH asam atau *Electrolyzed Oxidized Acidic Water* (EOAW) dan air dengan pH basa atau *Electrolyzed Reduced Alkaline Water* (ERAW). Air dengan pH basa (pH alkali) dapat dikonsumsi dan memiliki manfaat bagi kesehatan. Saat ini berkembang penelitian mengenai khasiat air minum alkali sebagai terapi pada berbagai penyakit. Penelitian oleh Henry dan Chambron (2013) menunjukkan bahwa air alkali bermanfaat sebagai terapi untuk penyakit kronis, seperti hipertensi, diabetes dan kanker.¹² Air minum alkali dalam bentuk molekul maupun atom penyusun memiliki efektivitas yang tinggi sebagai bahan terapeutik dengan pertimbangan bahwa tubuh manusia mengandung 60-80% air yang berperan dalam perkembangan dan fungsional organ tubuh. Air dengan pH basa atau pH alkali (8-10) memiliki potensi lain sebagai pengikat radikal bebas dan efektif menghambat peningkatan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) yang dihasilkan oleh metabolisme seluler normal.¹³ Air minum alkali direkomendasikan untuk dikonsumsi sebanyak 2 liter air alkali per hari, sehingga dapat menjaga kesehatan tubuh.¹⁴ Air minum alkali dengan *range* pH melebihi 10 dapat mengiritasi mata, mukosa dan kulit, sedangkan air dengan *range* pH dibawah 4 dapat menimbulkan kerusakan epitel yang ireversibel.¹⁵

Air minum dengan pH alkali dapat menetralkan pH asam yang dihasilkan oleh timbunan asam laktat hasil metabolisme anaerob. Namun, sampai saat ini belum diketahui dapat meningkatkan proses penyembuhan luka pada radang kronis atau tidak. Berdasarkan latar belakang di atas, maka peneliti ingin melihat ekspresi VEGF yang terjadi untuk mengetahui manfaat pemberian air minum alkali terhadap radang kronis dengan harapan terjadi peningkatan ekspresi VEGF pada radang kronis, sehingga mempercepat penyembuhan luka.

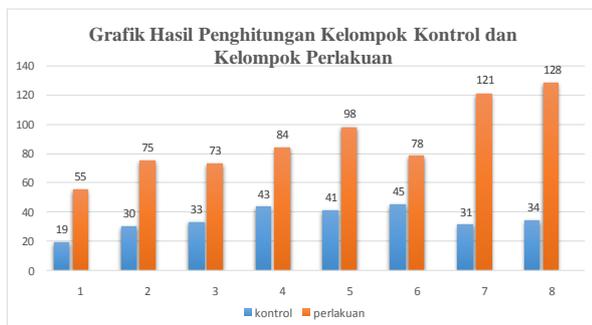
BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan *true eksperimental* dengan jumlah sampel 16 ekor tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang memenuhi *ethical clearance*, dengan berat 200-300 gram, usia 2-3 bulan yang dilakukan adaptasi 1 minggu, terdapat 2 kelompok yang terbagi menjadi kelompok kontrol (KK) yang tidak diberi konsumsi air minum alkali pH *range* 8,5 – 9 (diberikan minum air aquadest) dan kelompok perlakuan (KP) yang diberi konsumsi air minum

alkali pH range 8,5 – 9. Hari pertama sampai hari ke-3 dilakukan pembuatan radang kronis (luka sayat) pada gingiva labial dengan panjang 1 cm dan kedalaman \pm 1 mm pada tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dengan menggunakan *scalpel* dan *handle*. Dilakukan aplikasi H₂O₂ 10% 2 kali sehari 2-3 menit selama 3 hari untuk membuat radang kronis, kemudian setelah 3 hari pembuatan radang kronis, pada kelompok kontrol (KK) diberikan konsumsi air aquadest 10 cc setiap hari selama 3 hari dan pada kelompok perlakuan (KP) diberikan konsumsi air minum alkali 10 cc dengan pH range 8,5 – 9 setiap hari selama 3 hari. Kemudian, seluruh tikus dikorbankan 72 jam setelah pemberian air. Dilanjutkan dengan pembuatan sediaan imunohistokimia, pemberian monoklonal anti VEGF, dan pembacaan hasil. Sel endotel yang mengekspresikan VEGF (warna kecoklatan) diperiksa dengan mikroskop elektron (tipe Olympus FSX100) perbesaran 800x dan dihitung dengan cara semi kuantitatif pada semua sel yang mengalami perubahan ekspresi terhadap monoklonal anti VEGF pada 5 lapang pandang. Data yang diperoleh dianalisis dengan *Kolmogorov-Smirnov Test* untuk mengetahui normalitas data, uji *Levene's Test* untuk mengetahui homogenitas dan dilanjutkan dengan uji *Independent T Test* untuk mengetahui perbedaan jumlah ekspresi VEGF antar kelompok sampel.

HASIL

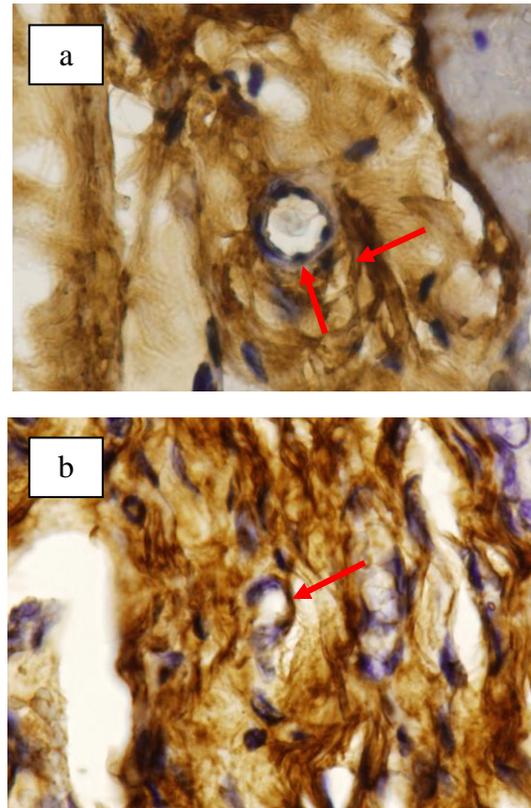
Dari hasil penelitian dapat dilihat rerata jumlah ekspresi VEGF pada kelompok kontrol (KK) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan (KP). Rerata jumlah ekspresi VEGF pada kelompok kontrol (KK) adalah 34,5 dan rerata jumlah ekspresi VEGF pada kelompok perlakuan (KP) adalah 89.



Gambar 1. Rerata jumlah ekspresi VEGF pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Pada hasil pengamatan gambaran imunohistokimia dengan pembesaran 800x

(Gambar 2) didapatkan bahwa ekspresi VEGF pada sel endotel baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan sudah mulai terlihat. Perbedaannya adalah pada kelompok kontrol hanya sedikit sel endotel yang mengekspresikan VEGF serta intensitasnya rendah, sedangkan pada kelompok perlakuan dengan jumlah sel endotel yang dapat mengekspresikan VEGF lebih banyak serta intensitasnya lebih kuat. Nampak bahwa ekspresi VEGF lebih banyak ditemukan pada sel endotel pada kelompok perlakuan (KP).



Gambar 2. Menunjukkan perbedaan jumlah ekspresi VEGF pada kelompok kontrol (a) dan kelompok perlakuan (b) (pewarnaan imunohistokimia, pembesaran 800x)

Hasil uji *Independent T Test* pada data jumlah ekspresi VEGF menunjukkan ada perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hal ini dikarenakan nilai Sig. (2-tailed) pada masing-masing kelompok yang dibandingkan adalah 0,000 ($p=0,000$), dimana $p=0,000 < p=0,05$ (tabel 1).

Tabel 1. Uji *Independent T Test* pada data jumlah ekspresi VEGF kelompok kontrol dan perlakuan

| Data | Kelompok yang dibandingkan | Sig. (2-tailed) |
|----------------------|----------------------------|-----------------|
| Jumlah ekspresi VEGF | Kontrol | 0,000 |
| | Perlakuan | 0,000 |

PEMBAHASAN

Reaksi radang merupakan respon pertahanan tubuh yang mendukung jaringan untuk melokalisasi dan mengeliminasi jejas ketika terjadi suatu kerusakan, pertahanan dari serangan mikroorganisme, serta proses kesembuhan luka untuk mengembalikan kondisi struktural dan fungsional.^{2,16} Radang kronis merupakan radang yang melibatkan proses kerusakan dan perbaikan jaringan dalam waktu yang sama dan salah satu faktor pencetusnya adalah hipoksia.⁵

Penelitian ini telah mendapatkan *ethical clearance* dan dilakukan pada binatang coba *Rattus norvegicus* jantan berusia 2-3 bulan dan berat badan 200-300 gram dengan membuat luka sayatan pada gingiva labial sejumlah 16 ekor. Kemudian pada luka sayatan diberi rangsang persisten dengan diaplikasi Hidrogen Peroksida (H₂O₂) 10% hari pertama sampai hari ke-3 untuk membuat radang kronis. Pada penelitian ini digunakan air minum alkali yang dibuat dengan mesin pengolah air (tipe Leveluk SD501) dan dikenal dengan nama dagang *Kan Gen Water*. Ekspresi VEGF dilihat dengan pengecatan imunohistokimia. VEGF dipilih karena berperan penting sebagai sinyal protein dalam proses angiogenesis, sehingga radang kronis cepat mengalami perbaikan jaringan.¹⁰

Pengamatan hasil penelitian dilakukan pada hari ke-6 setelah perlakuan. Kelompok kontrol sejumlah 8 ekor *Rattus norvegicus* diberi air aquadest karena air aquadest merupakan bahan yang memiliki pH netral, sehingga tidak menyebabkan iritasi pada jaringan (gingiva labial).¹⁷ Larutan aquadest merupakan larutan fisiologis yang berfungsi sebagai bahan perawatan radang karena diketahui sesuai dengan jaringan manusia.¹⁸ Sedangkan kelompok perlakuan sejumlah 8 ekor *Rattus norvegicus* diberi air minum alkali menggunakan pH range 8,5 – 9.

Hasil penghitungan jumlah ekspresi VEGF dalam penyembuhan radang kronis menunjukkan bahwa penggunaan air minum alkali akan semakin mempercepat penyembuhan radang kronis jika dibandingkan dengan penggunaan air

aquadest. Sebelum dilakukan uji analisis antar kelompok penelitian pada kelompok kontrol yang diberikan air aquadest dan kelompok perlakuan yang diberikan air minum alkali pH range 8,5 – 9 dilakukan uji normalitas pada masing-masing kelompok perlakuan dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov Test* untuk melihat hasil penelitian memiliki data berdistribusi normal atau tidak normal, dan pada hasil uji statistik didapatkan p>0,05 yang berarti data berdistribusi normal.

Uji berikutnya adalah uji homogenitas pada masing-masing kelompok perlakuan dengan menggunakan uji *Levene's Test* untuk mencari tahu apakah varian antar variabel data homogen atau tidak homogen, dan pada hasil uji statistik didapatkan p<0,05 yang berarti varian data tersebut tidak homogen. Setelah itu dilakukan uji parametrik test menggunakan *Independent T Test* untuk melihat adanya signifikansi perbedaan antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, menunjukkan hasil p = 0,000 (p<0,05) yang berarti ada perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Dapat diketahui bahwa rerata jumlah ekspresi VEGF pada kelompok kontrol 34,5 yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan 89. Terlihat adanya perbedaan bermakna ekspresi VEGF antara kelompok kontrol (KK) dengan kelompok perlakuan (KP). Peningkatan jumlah ekspresi VEGF yang tampak pada kelompok perlakuan menunjukkan bahwa pemberian air minum alkali yang bersifat basa dan mengandung antioksidan membantu mempercepat perbaikan radang kronis.

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menunda, memperlambat, mencegah proses oksidasi dan menghambat terbentuknya reaksi radikal bebas dengan memberikan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas.¹⁹ Kandungan daya antioksidan pada air minum alkali berperan dalam penurunan radikal bebas terutama karena adanya hidrogen aktif (H⁺) yang efisien menghambat peningkatan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS).^{20,21} Sebagai antioksidan, air minum alkali dapat berikatan dengan elektron terluar dari radikal bebas. Radikal bebas memiliki elektron terluar yang tidak berpasangan, sehingga bersifat tidak stabil. Ketidakstabilan elektron dapat menyebabkan kerusakan membran sel endotel. Antioksidan yang telah berikatan akan menyebabkan radikal bebas lebih stabil (keadaan radikal bebas di dalam organ mengalami penurunan) karena telah berpasangan, sehingga kerusakan membran sel endotel dapat berkurang dan proses penyembuhan radang kronis menjadi

lebih cepat. Proses eliminasi terhadap radikal bebas merupakan hal yang penting dalam proses perbaikan jaringan, sehingga proses penyembuhan radang kronis dapat berjalan dengan baik.²²

Air minum alkali mengandung antioksidan yang dapat menstabilkan radikal bebas dari radang kronis yang tidak berpasangan. Keadaan inilah yang mempengaruhi pemberian air minum alkali pada kelompok perlakuan menghasilkan ekspresi VEGF lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol yang hanya diberikan air aquadest. Proliferasi pembuluh darah baru menandakan adanya suatu proses penyembuhan luka. Pada pengamatan mikroskop ditandai dengan bentukan sel endotel yang tercat berwarna kecoklatan pada bagian sitoplasma. Keterbatasan pada mikroskop elektron yang digunakan (tipe Olympus FSX 100) yaitu tidak mampu melihat bagian sitoplasma dari sel endotel karena perbesaran maksimal hanya 800x, selain itu sediaan preparat kurang bagus. Maka, penggunaan mikroskop yang lebih canggih dengan perbesaran 1600x dapat digunakan untuk melihat sitoplasma pada sel endotel.

Peningkatan ekspresi VEGF pada kelompok perlakuan yang diberikan air minum alkali menunjukkan bahwa air minum alkali berperan dalam mempercepat penyembuhan radang kronis.

Simpulan hasil penelitian ini adalah Pemberian air minum alkali pH *range* 8,5 – 9 dapat meningkatkan ekspresi VEGF pada radang kronis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Celloti F & Laufer S, Inflammation, Healing and Repair Synopsis. J. Phar. Res. 2001: 43: p.5.
2. NN, Inflammation, Tissue Repair and Fever in Connection, Available from: www.com/go/porth, Chapter 9 [21 April 2015] 2003: p. 150-67.
3. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Robbins Basic Pathology, 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders: 2013: p. 55.
4. Sherwood L, Human Physiology From Cell to Systems, 7th ed. Belmont, CA: Cengage Learning: 2010: p. 425, 429.
5. Yuliantari E, Pemberian Ekstrak Anggur (*Vitis vinifera*) terhadap Peningkatan Ekspresi INF- γ pada Radang Kronis (*Rattus novergicus*). Skripsi, S1 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Cited Torre & Solar, 2006.
6. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, Carranza's Clinical Periodontology, 11th ed. Missouri: Elsevier Saunders: 2012: p. 71-72.
7. Christianti II, Gambaran Keperahan Keradangan pada Gingiva di Puskesmas Rangkah Kecamatan Tambaksari Surabaya Tahun 2015. Skripsi, S1 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia. 2015.
8. Wahyukundari MH, Perbedaan Kadar Matix Metalloproteinase-8 Setelah Scaling dan Pemberian Tetrasiklin pada Penderita Periodontitis Kronis, Departemen Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia. 2008.
9. Frisca, Sardjono CT, Sandra F, Angiogenesis Patofisiologi dan Aplikasi Klinis JKM. 2009: 8(2): p. 178-80.
10. Rubanyi GM, Angiogenesis in Health and Disease Basic Mechanisms and Clinical Applications. New York: Marcell Dekker Inc: 2000.
11. Winoto ER, Ekspresi RANKL dan VEGF akibat Pergerakan Gigi Ortodontik pada Tikus Hiperglikemia. Thesis, Program Magister Ilmu Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Cited Frank S, Hubner G, Longaker MT, Greenhalgh DG, Werner S, 1995. Regulation of VEGF Expression in Cultured Keratinocytes, Implication for Normal and Impaired Wound Healing, The Journal of Biological Chemistry. 2015: 270: p. 12607-13.
12. Henry M, Chambron J, Review: Physico-Chemical, Biological and Therapeutic Characteristics of Electrolyzed Reduced Alkaline Water (ERAW) Water. 2013: 5: p. 2094-2115.
13. Shirahata S, Hamasaki T, Teruya K, Advanced Research on The Health Benefit of Reduced Water, Trends in Food Science and Technology. 2012: 23: p. 124-131.
14. Kangen Water™ Research Library, Ionized Water Uses. Available from: www.acquavivakangen.it/file/ricerche_mediche.pdf [20 April 2015] 2013.
15. World Health Organization, WHO Guidelines for Drinking Water Quality, 2nd ed. 2. Health Criteria and Other Supporting Information, Geneva. 2003.
16. Rubin R, Strayer DS, Pathology Clinicopathologic Foundations of

- Medicine, 6th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins: 2012: p. 50,1.
17. Yuliantari E, Pemberian Ekstrak Anggur (*Vitis vinifera*) terhadap Peningkatan Ekspresi INF- γ pada Radang Kronis (*Rattus novergicus*). Skripsi, S1 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Cited Paramitha, 2008. 2010.
 18. Jacobson S, The Wrong Solution. *Emerg, Med*, 2004: 36(8): p. 13.
 19. Mandal S, Yadav S, Nema RK, Antioxidants: A Review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*: 2009: 1(1): p. 102-3.
 20. Shirahata S, Kabayama S, Nakano M, Miura T, Kusumoto K, Gotoh M, Hayashi H, Otsubo K, Morisawa S, Katakura Y, Electrolyzed-reduced water scavenges active oxygen species and protects DNA from oxidative damage, *Biochem Biophys Res Commun*. 1997: 234: p. 269-274.
 21. Nishimura LY et al, Protective Mechanism of Reduced Water Against Alloxan-Induced Pancreatic Beta-Cell Damage: Scavenging Effect Against Reactive Oxygen Species. 2002: 40(1-3): p. 139.
 22. Dissemond JG, The Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis and Therapy of Chronic Wound. *Hautarzt*. 2002: p. 18-23.