

**PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK BUNGA TELANG  
(*Clitoria ternatea L.*) TERHADAP KADAR INTERLEUKIN-6  
(IL-6) DAN KADAR *VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH*  
*FACTOR* (VEGF)**

**(Studi eksperimental *in vivo* pada tikus wistar jantan yang  
dipapar sinar UV-B)**

**TESIS**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



**Magister Ilmu Biomedik**

**Retno Adaninggar**

**MBK.22.20.010326**

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG  
SEMARANG**

**2024**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK BUNGA TELANG  
(*Clitoria ternatea* L.) TERHADAP KADAR INTERLEUKIN-6  
(IL-6) DAN KADAR *VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH*  
*FACTOR* (VEGF)**

**(Studi eksperimental in vivo pada tikus wistar jantan yang  
dipapar sinar UV-B)**

Disusun oleh :

Retno Adaninggar  
MBK.22.20.010326

Yang dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 29 Februari 2024 dan  
dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Telah disetujui oleh :

Pembimbing I,



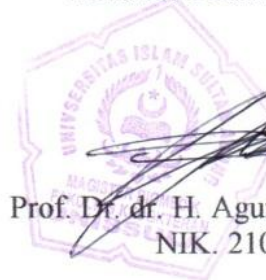
Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes  
NIK. 220198045

Pembimbing II,



Dr. dr. Hj. Chodidjah, M.Kes  
NIK. 210186023

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Unissula



Prof. Dr. dr. H. Agung Putra, M.Si.Med  
NIK. 210199050

## SURAT PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan Lembaga Pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/ tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.



## PRAKATA

Puji syukur keadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahnya sehingga penyusun dapat menyelesaikan penyusunan tesis dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea L.*) TERHADAP KADAR INTERLEUKIN-6 (IL-6) DAN KADAR GEN *VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR* (VEGF) (Studi eksperimental *in vivo* pada tikus wistar jantan yang dipapar sinarUV-B)”**.

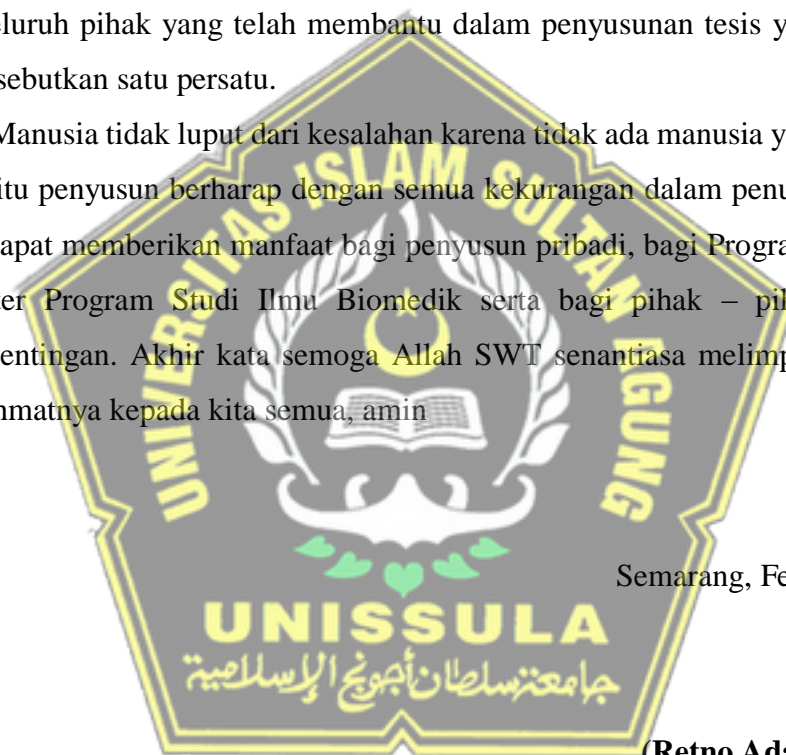
Pada penyusunan tesis ini penyusun mendapat bantuan pengarahan dan bimbingan, untuk itu pada penyusun ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya pada yang terhormat :

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M.Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung beserta para wakil rektor yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan Pendidikan Magister Ilmu Biomedik.
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp. F, SH selaku dekan Fakultas Kedokteran UNISSULA yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan di program Magister Ilmu Biomedik.
3. Prof. Dr. dr. H. Agung Putra., M.Si., Med selaku ketua Program Studi Magister Ilmu yang telah memberikan dorongan, semangat bimbingan masukan penyusun selama penyusunan tesis ini.
4. Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes selaku pembimbing I yang telah memberikan dorongan, semangat bimbingan masukan penyusun selama penyusunan tesis ini.
5. Dr. dr. Hj. Chodidjah, M.Kes selaku pembimbing II yang telah memberikan dorongan, semangat bimbingan masukan penyusun selama penyusunan tesis ini.
6. Dr. dr. Joko Wahyu, M.Kes selaku penguji I yang telah memberikan dorongan, semangat bimbingan masukan penyusun selama penyusunan tesis ini.

7. Dr. Drs. Israhnanto Isradji, Msi selaku penguji III yang telah memberikan dorongan, semangat bimbingan masukan penyusun selama penyusunan tesis ini.
8. Pada dosen pengajar dan rekan – rekan staf Magister Ilmu Biomedik yang tidak dapat disebutkan satu – satu yang telah memberikan doa dan dorongan kepadapenyusun.
9. Kedua orang tua yang telah memberikan dorongan, serta doa sehingga proposal tesis ini dapat terselesaikan.
10. Seluruh pihak yang telah membantu dalam penyusunan tesis yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Manusia tidak luput dari kesalahan karena tidak ada manusia yang sempurna, untuk itu penyusun berharap dengan semua kekurangan dalam penulisan tesis ini, tetap dapat memberikan manfaat bagi penyusun pribadi, bagi Program Pendidikan Magister Program Studi Ilmu Biomedik serta bagi pihak – pihak lain yang berkepentingan. Akhir kata semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan rahmatnya kepada kita semua, amin

Semarang, Februari 2024



**(Retno Adaninggar)**

## DAFTAR ISI

HAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
PRAKATA.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
ABSTRAK.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Teoretis.....	4
1.4.2. Manfaat Praktis.....	5
1.5. Originalitas Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1. Interleukin 6 (IL-6).....	9
2.1.1. Peran Interleukin-6 (IL-6).....	10
2.1.2. Mekanisme kerja molekuler Interleukin-6.....	11
2.1.3. Faktor-faktor yang mempengaruhi Interleukin-6.....	12
2.1.4. Alat Ukur Interleukin-6.....	13
2.2. <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (VEGF).....	14
2.2.1. Definisi.....	14

2.2.2.	Struktur dan Lokasi VEGF.....	15
2.2.3.	Mekanisme Kerja Molekuler VEGF .....	16
2.3.	Bunga Telang ( <i>Clitoria ternatea</i> L.) .....	17
2.3.1.	Definisi .....	17
2.3.2.	Manfaat Bunga Telang ( <i>Clitoria ternatea</i> L.) dalam Medis ...	19
2.4.	Anatomi dan Histologi Kulit .....	19
2.4.1.	Epidermis.....	20
2.4.2.	Dermis .....	21
2.5.	Melasma .....	22
2.6.	Ultraviolet-B (UVB).....	24
2.7.	Reactive Oxygen Species (ROS) .....	24
2.8.	Pengaruh Bunga Telang ( <i>Clitoria ternatea</i> L.) terhadap Kadar IL-6 dan Kadar VEGF pada Tikus model Melasma.....	26
<b>BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS .....</b>		<b>29</b>
3.1.	Kerangka Teori.....	29
3.2.	Kerangka Konsep .....	32
3.3.	Hipotesis.....	32
<b>BAB IV METODE PENELITIAN.....</b>		<b>33</b>
4.1.	Rancangan Penelitian .....	33
4.2.	Populasi dan Sampel .....	34
4.2.1.	Populasi dan Sampel .....	34
4.2.2.	Besar Sampel .....	34
4.2.3.	Cara Pengambilan Sampel Penelitian.....	34
4.2.4.	Kriteria Inklusi .....	34
4.2.5.	Kriteria Eksklusi.....	35
4.2.6.	Drop Out.....	35
4.3.	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional .....	35
4.3.1.	Variabel Bebas .....	35
4.3.2.	Variabel Terikat.....	35
4.3.3.	Definisi Operasional.....	35
4.4.	Alat dan Bahan Penelitian .....	36

4.4.1. Alat .....	36
4.4.2. Bahan.....	37
4.5. Prosedur Penelitian.....	37
4.5.1. Cara Pembuatan Ekstrak Bunga Telang ( <i>Clitoria ternatea</i> L.) .....	37
4.5.2. Penetapan Dosis .....	38
4.5.3. Pembagian Kelompok .....	39
4.6. Ekstraksi RNA dan Sintesis cDNA Pada Pemeriksaan VEGF .....	39
4.7. Alur Penelitian.....	41
4.8. Tempat dan Waktu Penelitian .....	42
4.9. Analisis Data .....	42
<b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>43</b>
5.1. Hasil Penelitian .....	44
5.1.1. Kadar IL-6.....	46
5.1.2. Kadar VEGF.....	47
5.2. Pembahasan.....	48
<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>53</b>
6.1. Kesimpulan.....	53
6.2. Saran.....	53
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>54</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>61</b>





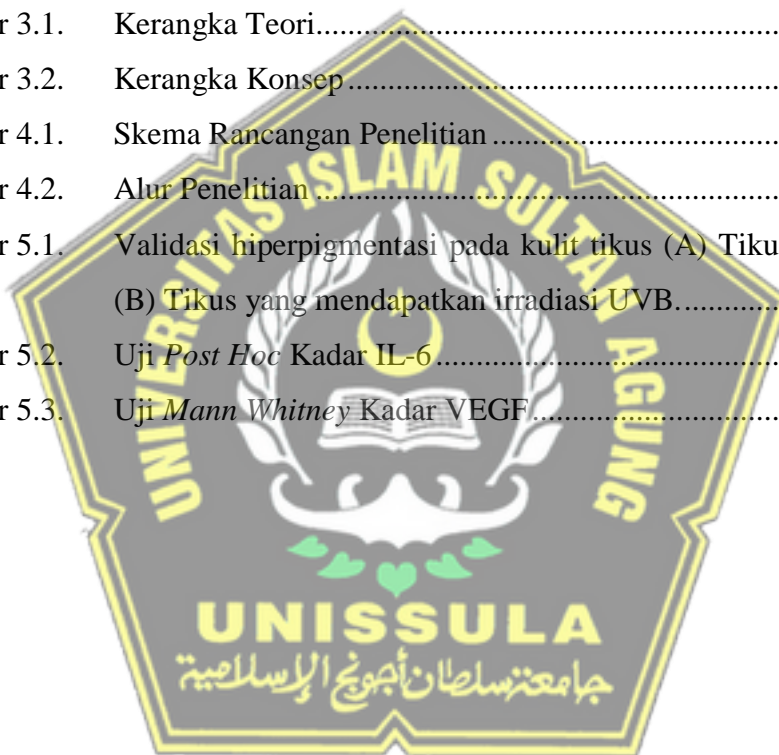
## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1.	Originalitas Penelitian.....	6
Tabel 5.1.	Hasil Penelitian Kadar IL-6 dan VEGF.....	44
Tabel 5.2.	Uji Post-hoc LSD kadar Il-6 dan Uji <i>Mann Whitney</i> kadar VEGF antar kelompok penelitian.....	45



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Struktur VEGF .....	15
Gambar 2.2.	Bunga Telang ( <i>Clitoria ternatea</i> L.) .....	18
Gambar 2.3.	Lapisan Apendik Kulit .....	20
Gambar 2.4.	Perubahan Patologis pada Dermis Melasma .....	23
Gambar 2.5.	Perubahan pada Dermis dengan Lesi Melasma .....	23
Gambar 2.6.	Macam-macam ROS .....	26
Gambar 3.1.	Kerangka Teori.....	31
Gambar 3.2.	Kerangka Konsep.....	32
Gambar 4.1.	Skema Rancangan Penelitian .....	33
Gambar 4.2.	Alur Penelitian .....	41
Gambar 5.1.	Validasi hiperpigmentasi pada kulit tikus (A) Tikus sehat dan (B) Tikus yang mendapatkan irradiasi UVB.....	44
Gambar 5.2.	Uji <i>Post Hoc</i> Kadar IL-6.....	47
Gambar 5.3.	Uji <i>Mann Whitney</i> Kadar VEGF.....	48



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	<i>Ethical Clearance</i> .....	61
Lampiran 2.	Surat Izin Penelitian.....	62
Lampiran 3.	Hasil Analisis Data.....	64
Lampiran 4.	Dokumentasi .....	70



## ABSTRAK

**Latar belakang:** Radiasi UVB dapat menembus epidermis dan dapat menginduksi kerusakan DNA pada sel-sel kulit dengan meningkatkan konsentrasi ROS. Selain itu radiasi UVB juga meningkatkan proliferasi melanosit yang dapat menyebabkan timbulnya melasma. Kerusakan kulit karena paparan sinar UV disebabkan oleh generasi ROS dan berbagai faktor inflamasi. Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) memiliki kandungan Glutation adalah salah satu antioksidan utama dalam tubuh, yang memiliki fungsi depigmentasi kulit. Salah satu efek fisiologis glutathione adalah menghambat melanogenesis dengan menekan aktivitas tirosinase.

**Metode:** Penelitian eksperimental dengan *post test control group*. Kelompok KN, P1 dan P2 masing-masing dipapar UVB dengan 302 nm dengan MED 160 mJ/cm<sup>2</sup>, sedangkan pada kelompok K0 kelompok sehat. Pada P1 diberi gel Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) 5% dan P2 diberi gel 10% setiap hari selama 14 hari, sedangkan KN menerima base gel. Pada hari ke 21 diambil sampel darah untuk dianalisis kadar IL-6 dan VEGF menggunakan ELISA.

**Hasil:** Kadar IL-6 pada kelompok perlakuan mengalami penurunan seiring dengan peningkatan dosis pemberian (P1=32,49±1,02, K4=27,82±0,74) dibandingkan dengan kontrol (KN=61,89±0,69, sedangkan K0=25,30±0,55). Kadar VEGF pada kelompok kontrol (KN=37,44±2,43) dan diikuti oleh kelompok sehat (K0=23,47±0,99), selanjutnya pada kelompok perlakuan P1 (K3=30,96±0,57) lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan P2 (K4=27,00±1,55).

**Kesimpulan:** Pemberian gel Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) dapat menurunkan kadar IL-6 dan meningkatkan kadar VEGF pada jaringan kulit tikus model hiperpigmentasi yang diinduksi sinar UVB.

**Kata Kunci:** Gel, Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*), IL-6, VEGF, Hiperpigmentasi.

## ABSTRACT

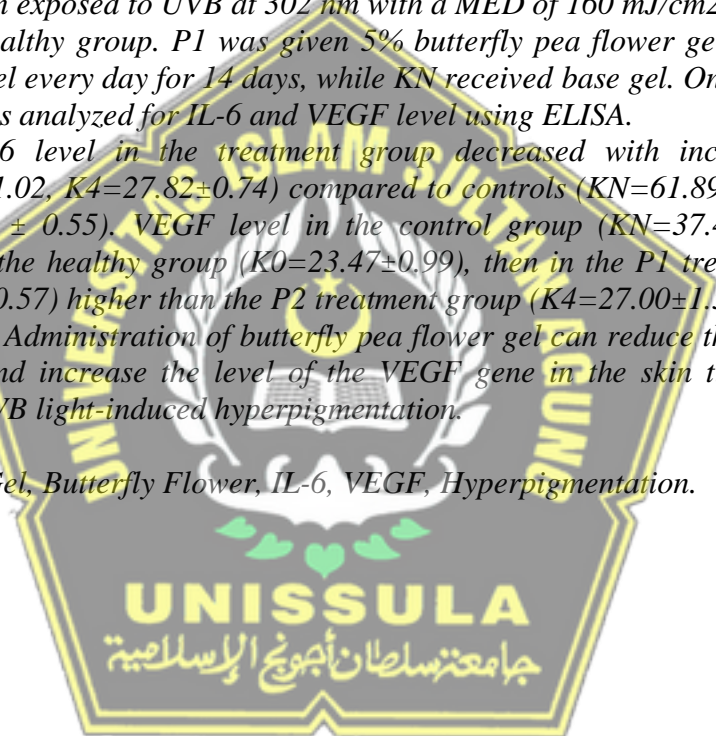
**Background:** UVB radiation can penetrate the epidermis and can induce DNA damage in skin cells by increasing ROS concentrations. Apart from that, UVB radiation also increases melanocyte proliferation which can cause melasma. Skin damage due to UV exposure is caused by the generation of ROS and various inflammatory factors. Telang flowers contain Glutathione, which is one of the main antioxidants in the body, which has a skin depigmentation function. One of the physiological effects of glutathione is to inhibit melanogenesis by suppressing tyrosinase activity.

**Method:** Experimental research with post test control group. Groups KN, P1 and P2 were each exposed to UVB at 302 nm with a MED of 160 mJ/cm<sup>2</sup>, while group K0 was a healthy group. P1 was given 5% butterfly pea flower gel and P2 was given 10% gel every day for 14 days, while KN received base gel. On the 21st day, the tissue was analyzed for IL-6 and VEGF level using ELISA.

**Results:** IL-6 level in the treatment group decreased with increasing dose (P1=32.49±1.02, K4=27.82±0.74) compared to controls (KN=61.89±0.69, while K0 = 25.30 ± 0.55). VEGF level in the control group (KN=37.44±2.43) and followed by the healthy group (K0=23.47±0.99), then in the P1 treatment group (K3=30.96±0.57) higher than the P2 treatment group (K4=27.00±1.55).

**Conclusion:** Administration of butterfly pea flower gel can reduce the level of the IL-6 gene and increase the level of the VEGF gene in the skin tissue of mice models of UVB light-induced hyperpigmentation.

**Keywords:** Gel, Butterfly Flower, IL-6, VEGF, Hyperpigmentation.



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Radiasi UVB dapat menembus epidermis dan dapat menginduksi kerusakan DNA pada sel-sel kulit dengan meningkatkan konsentrasi *reactive oxygen species* (ROS).<sup>1</sup> Selain itu radiasi UVB juga meningkatkan proliferasi melanosit yang dapat menyebabkan timbulnya melasma. Penyebab melasma disebut berkaitan erat dengan jenis kelamin, faktor genetik, perubahan hormonal ketika hamil, radiasi sinar UV dan penggunaan bahan kimia dalam kosmetik. Hingga saat ini yang dianggap sebagai pemicu utama dalam patogenesis melasma adalah karena paparan radiasi sinar UV.<sup>2</sup> Melanogenesis kulit dipengaruhi oleh melanin epidermis, yang sebagian besar terdiri dari keratinosit dan melanosit. Banyak faktor parakrin yang disekresikan oleh keratinosit dapat bekerja pada melanosit untuk menghambat melanogenesis salah satunya adalah *Interleukin-6* (IL-6).<sup>3</sup> Kerusakan kulit karena paparan sinar UV disebabkan oleh generasi ROS dan berbagai faktor inflamasi.<sup>4</sup> Kerusakan tersebut ditandai dengan peningkatan signifikan ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang berlebih pada epidermis kondisi melasma.<sup>5</sup> Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa Gel ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) 5% terbukti dapat menghambat peningkatan MMP-1 pada kulit tikus Wistar yang terpapar sinar UV-B.<sup>6</sup> Maka peneliti ingin mengkaji lebih lanjut tentang manfaat Gel ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) terhadap

kadar IL-6 dan kadar VEGF pada tikus wistar jantan yang dipapar sinar UV-B.

Prevalensi melasma mulai dari 9% pada populasi Hispanik di Amerika Serikat bagian selatan hingga 40% di Asia Tenggara.<sup>7</sup> Melasma terjadi pada 75% kehamilan dan 26-29% wanita melaporkan onset kelainan ini selama kehamilan.<sup>8</sup> Data pasien melasma di Indonesia bervariasi pada beberapa rumah sakit. Berdasarkan data kunjungan di Poliklinik Dermatovenereologi RS Dr. Cipto Mangunkusumo Jakarta tahun 2011, pasien melasma sebesar 18,1% dari total 3.763 kunjungan, dengan distribusi 98,4% wanita dan 1,6% laki-laki, di RSUD Dr. Moewardi Surakarta tahun 2013 didapatkan pasien melasma sebesar 45,9%.<sup>9</sup> Berdasarkan pemeriksaan histologis melasma dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu tipe epidermal (70%), tipe dermal (10-15%), tipe campuran (20%) dan tipe indeterminan (2-3%).<sup>10</sup>

Radiasi UV menghasilkan ROS dan menyebabkan stres oksidatif. Hal ini menyebabkan kaskade eritema dan reaksi inflamasi yang dapat dianggap sebagai faktor penting yang mempengaruhi patogenesis melasma.<sup>9</sup> Penelitian lain menyebutkan bahwa hubungan antara UVB dan pigmentasi kulit memang ada. Melanosit manusia dapat merespons faktor angiogenik karena melanosit manusia pada umumnya mengekspresikan VEGFR, dan ekspresi VEGFR-2 adalah diatur oleh UVB.<sup>11</sup> Salah satu alternatif yang dapat digunakan menjadi antioksidan eksogen adalah ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*). Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) memiliki warna ungu-kebiruan yang khas disebabkan adanya senyawa antosianin, yaitu

pigmen warna yang telah diketahui memiliki sifat antioksidan. Secara spesifik, jenis antosianin yang terkandung adalah ternatin diantaranya senyawa delpinidin 3-o-glikosida.<sup>12</sup>

Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) memiliki kandungan senyawa bioaktif antara lain: kaempferol, kuersetin, dan mirisetin. Penelitian sebelumnya menyimpulkan bahwa disimpulkan bahwa ekstrak air bunga, daun, dan akar kembang telang memiliki potensi yang sama sebagai antioksidan.<sup>13</sup> Penelitian sebelumnya mengemukakan bahwa Glutation adalah salah satu antioksidan utama dalam tubuh, yang memiliki fungsi depigmentasi kulit. Salah satu efek fisiologis glutathione adalah menghambat melanogenesis dengan menekan aktivitas tirosinase.<sup>14</sup> Penelitian terdahulu membuktikan bahwa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol *C. Ternatea* adalah flavonoid, saponin, terpenoid dan tanin. Penelitian ini juga menyebutkan bahwa aktivitas antioksidan *C. Ternatea* digolongkan kategori kuat dengan nilai *Inhibition Concentration* 50% (IC50) sebesar 87,86 ppm.<sup>15</sup> Berdasarkan uraian diatas, perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengkaji efektifitas pemberian Gel Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) terhadap kadar IL-6 dan kadar VEGF pada tikus galur wistar yang dipapar UVB.

## 1.2. Rumusan Masalah

Adakah pengaruh pemberian Gel Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) terhadap kadar IL-6 dan kadar VEGF pada tikus galur wistar melasma yang dipapar UVB?



### 1.3. Tujuan Penelitian

#### 1.3.1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh Gel Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) terhadap kadar IL-6 dan kadar VEGF pada tikus galur wistar melasma yang dipapar UVB.

#### 1.3.2. Tujuan Khusus

Penelitian ini bertujuan khusus antara lain :

1. Membuktikan pengaruh pemberian Gel Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) secara topikal 5% dan topikal 10% terhadap ekspresi IL-6 pada tikus galur wistar yang dipapar UVB dibandingkan kelompok kontrol.
2. Membuktikan pengaruh pemberian Gel Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) secara topikal 5% dan topikal 10% terhadap ekspresi VEGF pada tikus galur wistar yang dipapar UVB dibandingkan kelompok kontrol.

### 1.4. Manfaat Penelitian

#### 1.4.1. Manfaat Teoretis

Manfaat teoritis yang terdapat dari penelitian ini adalah adanya informasi Efektivitas Pemberian Gel Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) terhadap kadar IL-6 dan kadar VEGF pada tikus galur wistar melasma yang dipapar UVB.

#### 1.4.2. Manfaat Praktis

Mengembangkan pemanfaatan Gel Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) sebagai bahan alam yang bermanfaat dan aman bagi kesehatan tubuh terutama pada melasma.



## 1.5. Originalitas Penelitian

**Tabel 1.1. Originalitas Penelitian**

No	Peneliti, tahun	Judul	Metode	Hasil
1.	Cahyaningsih <i>et al</i> , 2019. <sup>15</sup>	Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang ( <i>Clitoria ternatea L.</i> ) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis	Spektrofotometri Uv-Vis	hasil pengujian aktivitas antioksidan diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 0.5232x + 4.0289$ dengan $R^2 = 0.9733$ , yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol 80% Bunga Telang ( <i>Clitoria ternatea L.</i> ) memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC50 sebesar 87,86 ppm
2.	Suherlan <i>et al</i> , 2021. <sup>16</sup>	Uji In-Silico Aktivitas Melanogenesis Senyawa Ternatin Bunga Kembang Telang ( <i>Clitoria ternatea L.</i> ) terhadap Reseptor Tirosinase	Eksperimental	hasil yang paling baik ditunjukkan senyawa ternatin A1 dengan hasil ACE score -567,79 kJ/mol, sementara ternatin B1 -180,15 kJ/mol, ternatin C1 -142,98 kJ/mol dan ternatin D1 -98,64 kJ/mol. Dengan demikian, ternatin A1 diprediksi dapat digunakan sebagai kandidat antmelanogenesis.
3	Subchan <i>et al</i> , 2022. <sup>17</sup>	Ekstrak Bunga Telang ( <i>Clitoria ternatea L.</i> ) Menghambat Peningkatan Ekspresi Gen MMP-1 pada Kulit Tikus Wistar yang Terpapar Sinar Ultraviolet B	Eksperimental post-test-only	(Gel ekstrak <i>Clitoria ternatea L.</i> 5% terbukti dapat menghambat peningkatan ekspresi MMP-1 pada kulit tikus Wistar yang terpapar sinar UV-B.

4	Ritonga 2020. <sup>18</sup>	<i>et al.</i> Formulation and Evaluation of Sun Block Lotion Made From Virgin Coconut Oil (VCO) with the Addition of Extract of Telang Flowers ( <i>Clitoria Ternatea</i> , L) and Pandan Leaves ( <i>Pandanumusa Paradisiaca</i> , L)	In Vitro, Eksperimental	Hasilnya menunjukkan nilai perlindungan terhadap sinar matahari yang paling tinggi adalah penambahan ekstrak Bunga Telang ( <i>Clitoria ternatea L.</i> ) dinyatakan dengan SPF 20,64, aktivitas antioksidan 81,66%, pH 6, asam lemak bebas 0,012%.
5	Chen <i>et al.</i> 2018. <sup>19</sup>	Application of Butterfly Pea Flower Extract in Mask Development	In Vitro, Eksperimental	Hasil menunjukkan bahwa larutan fermentasi bunga telang tidak hanya menghambat kemerahan, gatal, alergi, dan iritasi pada kulit, tetapi juga memiliki sifat antioksidan dan meningkatkan retensi kelembaban dan efek memutihkan.

Berdasarkan tabel 1.1 penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak etanol 80% Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 87,86 ppm.<sup>15</sup> Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian ini dimana ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) akan di treatment pada tikus yang dipapar sinar UVB dan dianalisis kadar IL-6 dan kadar VEGF. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) dapat digunakan sebagai kandidat antimelanogenesis.<sup>16</sup> Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian ini dimana ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) akan di treatment pada tikus yang dipapar sinar UVB dan dianalisis kadar IL-6 dan kadar

VEGF. Hasil penelitian terdahulu selanjutnya membuktikan bahwa Gel ekstrak *Clitoria ternatea L.* 5% dapat menghambat peningkatan ekspresi MMP-1 pada kulit tikus Wistar yang terpapar sinar UV-B.<sup>5</sup> Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian ini dimana ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) akan di treatment pada tikus yang dipapar sinar UVB dan dianalisis kadar IL-6 dan kadar VEGF. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa penambahan ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) dinyatakan dengan SPF 20,64, aktivitas antioksidan 81,66%, pH 6, asam lemak bebas 0,012% merupakan perlindungan terhadap matahari yang paling tinggi.<sup>18</sup> Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian ini dimana ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) akan di treatment pada tikus yang dipapar sinar UVB dan dianalisis kadar IL-6 dan kadar VEGF. Penelitian terdahulu juga melaporkan bahwa Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) tidak hanya menghambat kemerahan, gatal, alergi, dan iritasi pada kulit, tetapi juga memiliki sifat antioksidan dan meningkatkan retensi kelembaban dan efek memutihkan.<sup>19</sup> Penelitian tersebut juga berbeda dengan penelitian ini ini dimana ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) akan di treatment pada tikus yang dipapar sinar UVB dan dianalisis ekspresi IL-6 gen dan kadar VEGF.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. *Interleukin 6 (IL-6)*

*Interleukin-6 (IL-6)* termasuk dalam salah satu kelompok sitokin proinflamasi sehingga sitokin ini berpeluang untuk dijadikan indikator menilai tingkat inflamasi yang dialami oleh sel endotel pembuluh darah.<sup>20</sup> IL-6 beredar dalam bentuk multiple *glycosylated* dengan ukuran bervariasi antara 21 -28 kDa. Peningkatan kadar IL-6 serum dapat menyebabkan penurunan regulasi produksi NO dengan menghambat *endothelial nitric oxide synthase (eNOS)* sehingga memfasilitasi pembentukan trombus dan akibatnya meningkatkan risiko kejadian penyakit kardiovaskuler. Peningkatan kadar penanda inflamasi berhubungan dengan disfungsi endotel dan untuk mengidentifikasi pasien dengan kondisi yang lebih parah.<sup>21</sup>

IL-6 merupakan sitokin proinflamasi kuat yang dihasilkan oleh beberapa jenis sel, termasuk makrofag yang teraktivasi, sel T, sel endotel, dan sel otot polos untuk merangsang respon kekebalan tubuh selama infeksi telah diakui sebagai penanda potensial terkait dengan kejadian penyakit kardiovaskuler. Selain itu, IL-6 juga mempengaruhi tindakan beragam seluler, termasuk efek pada trombosit, endotelium, faktor metabolisme, dan koagulasi. Interleukin-6 memainkan peran penting dalam proses ruptur atau erosi plak aterosklerotik dan kadar IL-6 serum yang meningkat selama peristiwa ini.<sup>21</sup> Peningkatan kadar IL-6 berkorelasi dengan kerusakan jaringan dan inflamasi yang terjadi. Secara umum IL-6 berhubungan dengan

IL-1 dan TNF- $\alpha$ , yang artinya ketiga sitokin ini dapat saling berkoordinasi pengeluarannya dari monosit aktif, terutama di daerah inflamasi sehingga sering disebut sitokin proinflamasi (*proinflammatory-cytokine*).<sup>22</sup>

Nilai normal kadar IL-6 dalam serum adalah  $< 4$  pg/ml. Jika kadar interleukin-6 dalam serum adalah  $\geq 4$  pg/ml dapat dikatakan meningkat.<sup>23</sup> Hal ini menandakan bahwa telah terjadi suatu proses inflamasi. Peningkatan IL-6 juga memiliki efek yang merugikan seperti meningkatkan suhu tubuh dan dalam peningkatan kronis IL-6 menyebabkan kerusakan jaringan yang ditandai dengan terjadinya proses inflamasi.<sup>24</sup> Kadar IL-6 dalam serum dapat meningkat seiring dengan bertambahnya usia. Pada usia 65- 74 tahun, kadar IL-6 rata – rata adalah 1,4 pg/ml pada laki - laki dan 1,1 pg/ml pada wanita. Pada usia diatas 85 tahun, rata-rata kadar IL-6 pada laki – laki adalah 3,5 pg/ml dan 2,1 pg/ml pada wanita. Peningkatan kadar IL-6 terkait usia diakibatkan stimulasi produksi IL-6 terkait peningkatan jumlah radikal bebas oksigen.<sup>25</sup>

### 2.1.1. Peran *Interleukin-6* (IL-6)

Limfosit T helper dibagi menjadi Th1 yang menghasilkan sitokin proinflamasi *interferon- $\gamma$*  (IFN-  $\gamma$ ), *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF-  $\alpha$ ), *tumor necrosis factor- $\beta$*  (TNF-  $\beta$ ), *interleukin-1*, *interleukin-6*, *interleukin-8*, *interleukin-12* yang berfungsi mengaktifkan sistem imun seluler dan sistem imun non spesifik. Th2 menghasilkan sitokin anti inflamasi yaitu *interleukin-4* dan *interleukin-10* yang mengaktifkan sistem imun humoral.<sup>26</sup>

Sitokin IL-6 berfungsi sebagai pro inflamasi dan anti inflamasi yang disekresikan oleh sel T dan makrofag. Sitokin IL-6 berperan dalam merangsang respon sistem kekebalan tubuh terhadap mikroba tertentu seperti *Mycobacterium leprae* melalui *pathogen associated molecular patterns* (PAMPs) yang kemudian akan mengikat *pattern recognition receptors* (PRRs) dan *Toll-like receptors* (TLRs).<sup>27</sup> Sitokin IL-6 merangsang hepatosit untuk memproduksi *acute phase protein* (APP) dan *cerebro spinal fluid* (CPS) untuk merangsang progenitor di sumsum tulang untuk memproduksi *neutrophil*. selain itu, *interleukin-6* juga merangsang pertumbuhan dan diferensiasi sel B menjadi sel mast yang akan memproduksi antibodi pada sistem imun spesifik. *Interleukin-6* merupakan *growth factor* (GF) sel plasma neoplastik (*myeloma*).

### 2.1.2. Mekanisme kerja molekuler *Interleukin-6*

*Interleukin-6* (IL-6) memiliki berat molekul antara 21-28 kD, tergantung dari proses berlangsung seperti glikosilasi dan fosforilasi. Melalui proses ini maka aktivitas biologi *interleukin-6* dan kehadirannya di jaringan yang spesifik bisa terjadi. Peptide *interleukin-6* terdiri dari 212 asam amino dengan gen yang terletak pada kromosom 7p21 dengan jumlah 5 ekson dan 4 intron. *Interleukin-6* disekresikan oleh berbagai protein heterogen dengan berat molekul 19-70 kD, dengan bentuk isoform yang dominan berkisar antara 23-30 kD. Polipeptida *interleukin-6* berikatan dengan



protein pembawa yang berbeda contohnya albumin dan soluble *interleukin-6* reseptor.

*Interleukin-6* memiliki 2 molekul *transmembrane*, yaitu *interleukin-6R* dan *signal transducing subunit*. Peran pleiotropik *interleukin-6* sebagai agen pro inflamasi dan anti inflamasi yang berkaitan dengan *interleukin-6R*. *interleukin-6* diregulasi dan diekspresikan dengan jumlah yang sedikit, kecuali pada kondisi infeksi dan kondisi trauma. Peran proinflamasi *interleukin-6* terjadi pada proses kronis, seperti penyakit-penyakit autoimun, contohnya; lupus, kusta, *rheumatoid arthritis*. Peningkatan kadar *interleukin-6* terjadi pada kondisi infeksi akut bakteri, peradangan kronis, kondisi bakterimia.<sup>28</sup>

### 2.1.3. Faktor-faktor yang mempengaruhi *Interleukin-6*

#### 1. Usia

Tingkat *interleukin-6* dapat meningkat seiring dengan bertambahnya usia. Rata-rata kadar IL-6 pada usia 65-74 adalah 1,4pg/mL pada pria dan 1,1 pg/mL pada pria dan 2,1 pg/mL pada wanita. Peningkatan kadar IL-6 yang terkait usia diakibatkan oleh stimulasi produksi IL-6 yang terkait dengan peningkatan jumlah radikal bebas dalam tubuh. Penyebab lainnya adalah terganggunya regulasi normal pada kadar yang mengatur produksi IL-6.<sup>29</sup>

## 2. Merokok

Merokok dapat memicu *interleukin-6* oleh leukosit. *Interleukin-6* memiliki peran penting dalam proses sintesis CRP dan protein fase akut lainnya oleh hepar. Sitokin IL-6 berbeda dengan sitokin lainnya karena sebagian besar sitokin IL-6 beradadi dalam sirkulasi.<sup>25</sup>

## 3. Diabetes Mellitus

IL-6 mempengaruhi proses metabolisme glukosa dalam tubuh dengan menyebabkan peningkatan glukosa basal dan mengubah sensitivitas insulin.<sup>30</sup>

## 4. Penyakit Jantung

IL-6 terlihat dalam proses patogenesis arteri koroner dan berhubungan dengan *aterosklerosis*. Tingkat IL-6 yang tinggi dikaitkan dengan kematian pada pasien dengan sindrom koroner akut.<sup>30</sup>

### 2.1.4. Alat Ukur Interleukin-6

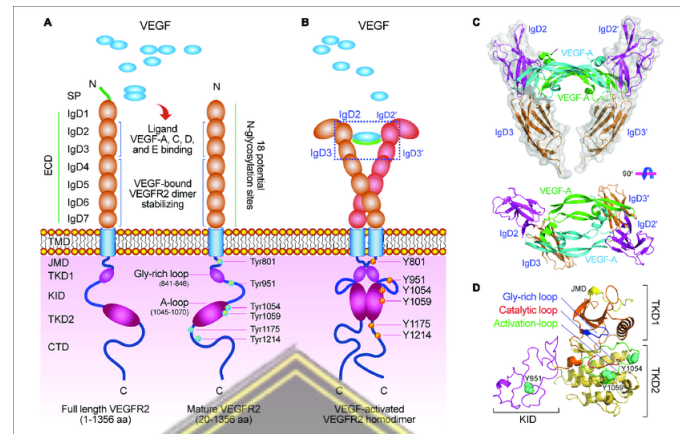
Pengukuran kadar *interleukin-6* dapat menggunakan *enzyme linked immune sorbent assay* (ELISA) dengan kadar normal <11 pg/ml. Metode ELISA (*enzyme linked immune sorbent assay*) merupakan suatu teknik biokimia yang banyak digunakan dibidang imunologi yang berfungsi untuk mendeteksi adanya antibodi atau antigen.

## 2.2. *Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)*

### 2.2.1. Definisi

*Vascular endothelial growth factor (VEGF)* adalah molekul pencetus angiogenesis. Glikoprotein proangiogenik yang berfungsi meningkatkan proliferasi, migrasi, survival pada sel endotel serta meningkatkan permeabilitas kapiler. VEGF merupakan sebuah basa, 34-46-kDa homodimeric, heparinbinding glycoprotein dan gen VEGF berada di kromosom 6p12. Kadar VEGF berpotensi pada respon terhadap hipoksia dan aktifasi oleh onkogen VEGF, yang jugadisebut *vascular permeability factor (VPF)*, termasuk ke dalam keluarga *supergene VEGF-platelet-derived growth factor (PDGF)*. VEGF merupakan sinyal kunci yang digunakan oleh sel yang kekurangan oksigen (*oxygen-hungry cells*) untuk memicu pertumbuhan pembuluh darah. VEGF adalah regulator utama angiogenesis yang bekerja dengan menstimulasi mitogenesis dari sel endotel dan meningkatkan permeabilitas pembuluh darah. Banyak peneliti mengemukakan nlevel VEGF dalam sirkulasi berhubungan dengan besarnya tumor dan metastase penyakit, dan kadar VEGF dalam sirkulasi berhubungan dengan progresifitas penyakit. Hal ini menandakan bahwa ada kemungkinan untuk mengukur level VEGF dalam serum dan plasma darah.<sup>31</sup>

## 2.2.2. Struktur dan Lokasi VEGF



**Gambar 2.1. Struktur VEGF**  
(Sumber : Wang et al)<sup>32</sup>

Ikatan VEGF dengan reseptornya terjadi pada sel endotel, dan merangsang motilitas sel endotel vaskuler serta sel monosit. VEGF secara selektif dan reversibel, memungkinkan permeabilitas sel endotel terhadap plasma dan protein plasma tanpa mengakibatkan injury pada sel endotel tersebut. Protein VEGF diekspresikan oleh berbagai jaringan dan organ. VEGF terdiri dari *N-linkage glycosylation site*, yang memiliki 9 isoform mRNA, diantaranya adalah: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F, dan *placental growth factor (PGF)*.<sup>33</sup>

*Vascular endothelial growth factor A (VEGF-A)* bertugas untuk meningkatkan permeabilitas kapiler dan proliferasi sel endotel melalui ikatannya dengan reseptor spesifik tyrosine kinase family. VEGF paling banyak ditemukan di jaringan paru, ginjal, jantung, dan

kelenjar adrenal pada manusia dewasa. Namun VEGF sedikit ditemukan pada organ hati, limpa, dan mukosa lambung.<sup>34</sup>

*Vascular endothelial growth factor B* (VEGF-B) terdapat pada organ jantung dan susunan saraf pusat, terekspresi pada neoplasma payudara, thyroma, fibrosarkoma, non hodgkin lymphoma, dan melanoma maligna. VEGF-C terdapat pada organ jantung, ovarium, plasenta, otot bergaris, dan prostat, dan lambung. VEGF-C dan VEGF-D dapat berikatan dengan VEGFR3 yang merupakan pemicu proses limfogenesis. VEGF-E adalah faktor non-human, menstimulasi kemotaksis, proliferasi, dan sprouting pada sel endotel vaskuler yang dikultur pada angiogenesis in vivo. VEGF-F mempunyai aktivitas permeabilitas vaskuler yang mirip VEGF-E. Sedangkan PlGF berlokasi pada plasenta, berperan meningkatkan signaling VEGF.<sup>35</sup>

### 2.2.3. Mekanisme Kerja Molekuler VEGF

VEGF pada masa awal perkembangan vaskuler berikatan dengan salah satu reseptornya (VEGFR-2) pada angioblast dan menginduksi pembentukan dan proliferasi sel endotel. Kemudian VEGF berikatan dengan reseptor kedua (VEGFR-1) menginduksi karakteristik pembentukan tubulus pada kapiler. Perjalanan angiogenesis selanjutnya dikontrol oleh angiopoitin (Ang1 dan Ang2). Ang1 berinteraksi dengan reseptor pada sel endotel, disebut Tie2, mengerahkan sel periendoel untuk menjaga stabilisasi

pembuluh yang baru terbentuk. Interaksi Ang1/Tie2 menyebabkan maturasi pembuluh darah dari tubulus endotel yang sederhana menjadi struktur vaskuler yang lebih rumit dan menjaga keseimbangan endotel. Berlawanan dengan hal tersebut Ang2 juga berikatan dengan Tie2 melonggarkan sel endotel sehingga menjadi lebih responsif terhadap rangsangan grow factor seperti VEGF atau jika tidak ada VEGF menjadi lebih responsif terhadap inhibitor angiogenesis.<sup>35</sup>

## 2.3. Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

### 2.3.1. Definisi

Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) yang biasa juga disebut sebagai Butterfly Pea Flower termasuk dalam family Fabaceae. Sejak abad ke-19 Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) sudah terebar ke daerah tropis termasuk di Indonesia.<sup>36</sup> Tanaman ini membutuhkan cahaya yang cukup tinggi untuk tumbuh sehingga mampu tumbuh dengan lebat di bawah naungan seperti di perkebunan kelapa dan karet.



**Gambar 2.2.** Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)  
(Sumber: Astuti *et al*)<sup>37</sup>

Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) secara taksonomi diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Sub Kingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Fabales</i>
Famili	: <i>Fabaceae</i>
Genus	: <i>Clitoria</i>
Spesies	: <i>Clitoria Ternatera</i>

Hasil analisa profil senyawa biologis yang dilakukan penelitian yang lampau mengatakan bahwa kandungan Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) meliputi zat tanin, flobatanin, karbohidrat, saponin, triterpenoid, fenol flavonoid, flavanol glikosida, protein, alkaloid, antrakuinon, stigmasit 4-ena<sup>3,6</sup> dion, minyak volatil, steroid, dan flavonoid. Flavonoid yang terdapat dalam Bunga

Telang (*Clitoria ternatea L.*) antara lain : isoflavon, flavanon, flaveur, flavonol, kaemferol, apigenin dan antosianin, yang dilaporkan memiliki khasiat antiinflamasi.<sup>38,39</sup>

### 2.3.2. Manfaat Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) dalam Medis

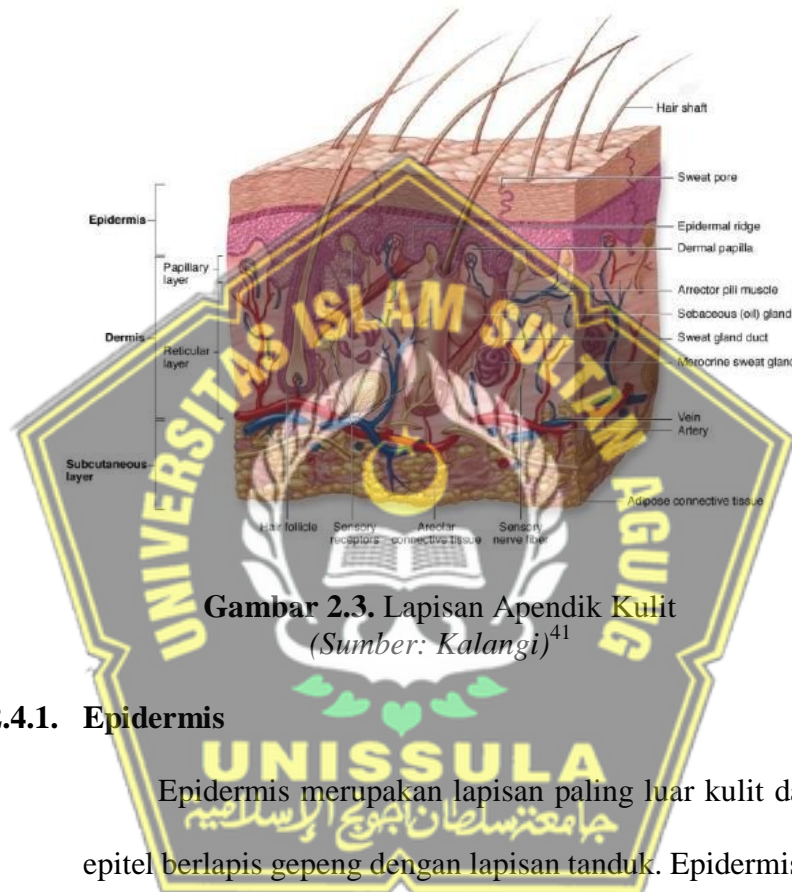
Penggunaan Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) dalam pengobatan tradisional telah mendorong para peneliti untuk menjelaskan aktivitas farmakologi ekstrak yang diperoleh dari berbagai bagian Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*). Beberapa penelitian pada hewan coba telah melaporkan bahwa ekstrak tersebut menunjukkan sifat immunomodulator, antioksidan, anti-reumatik, antilipidemik, antidiabetik, antipiretik, analgesik, antiinflamasi, antiasma, nootropik, dan diuretik. Sifat-sifat diatas diketahui dikarekanan oleh kandungan flavonol, antosianin, dan siklotida dalam Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*).<sup>38,40</sup>

### 2.4. Anatomi dan Histologi Kulit

Kulit beserta turunannya, meliputi rambut, kuku, kelenjar sebacea, kelenjar keringat, dan kelenjar mammae disebut juga integumen. Fungsi spesifik kulit terutama tergantung sifat epidermis. Epitel pada epidermis ini merupakan pembungkus utuh seluruh permukaan tubuh dan ada kekhususan setempat bagi terbentuknya turunan kulit, yaitu rambut, kuku, dan kelenjar-kelenjar. Menurut Kalangi, struktur kulit terdiri atas 2 lapisan utama yaitu epidermis dan dermis. Epidermis merupakan jaringan epitel yang berasal dari



ektoderm, sedangkan dermis berupa jaringan ikat agak padat yang berasal dari mesoderm. Di bawah dermis terdapat selapis jaringan ikat longgar yaitu hipodermis, yang pada beberapa tempat terutama terdiri dari jaringan lemak.<sup>41</sup>



**Gambar 2.3.** Lapisan Apendik Kulit  
(Sumber: Kalangi)<sup>41</sup>

#### 2.4.1. Epidermis

Epidermis merupakan lapisan paling luar kulit dan terdiri atas epitel berlapis gepeng dengan lapisan tanduk. Epidermis hanya terdiri dari jaringan epitel, tidak mempunyai pembuluh darah maupun limfa, oleh karena itu semua nutrisi dan oksigen diperoleh dari kapiler pada lapisan dermis. Epidermis terdiri atas 5 lapisan yaitu, dari dalam ke luar<sup>42</sup>:

- a. Stratum Basal : Pada lapisan ini biasanya terlihat gambaran mitotik sel, proliferasi selnya berfungsi untuk regenerasi epitel.
- b. Stratum Spinosum (Lapisan Tajuk) : Pada tajuk inilah terletak

desmosom yang melekatkan sel-sel satu sama lain pada lapisan ini.

Semakin ke atas bentuk sel semakin gepeng

- c. Stratum Granulosum : Lapisan ini terdiri atas 2-4 lapis sel gepeng yang mengandung banyak granula basofilik yang disebut granula keratohialin.
- d. Stratum Lusidum : Ada sedikit desmosom, tetapi pada lapisan ini adhesi kurang sehingga pada sajian seringkali tampak garis celah yang memisahkan stratum korneum dari lapisan lain di bawahnya.
- e. Stratum Korneum : Lapisan ini terdiri atas banyak lapisan sel-sel mati, pipih dan tidak berinti serta sitoplasmanya digantikan oleh keratin.

#### 2.4.2. Dermis

Dermis adalah lapisan kulit kedua. Dermis berfungsi sebagai pelindung dalam tubuh manusia. Struktur pada lapisan dermis ini lebih tebal, meskipun hanya terdiri dari dua lapisan.<sup>42</sup>

##### a. Stratum Papilaris

Lapisan ini tersusun lebih longgar, ditandai oleh adanya papila dermis yang jumlahnya bervariasi antara 50 – 250/mm<sup>2</sup> . Jumlahnya terbanyak dan lebih dalam pada daerah di mana tekanan paling besar, seperti pada telapak kaki. Sebagian besar papila mengandung pembuluh-pembuluh kapiler yang memberi nutrisi pada epitel di atasnya. Papila lainnya mengandung badan akhir saraf sensoris yaitu badan Meissner. Tepat di bawah epidermis

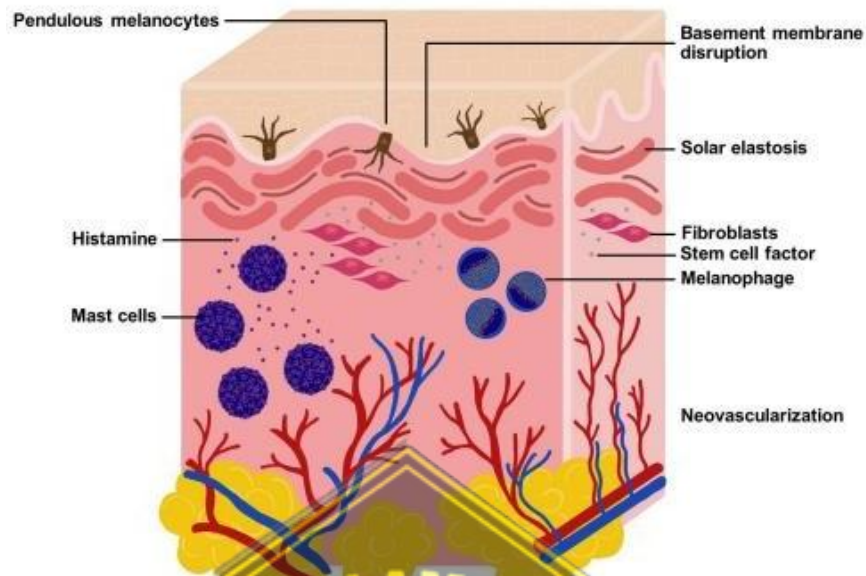
serat-serat kolagen tersusun rapat.<sup>41</sup>

b. Stratum Retikularis

Lapisan ini lebih tebal dan dalam. Berkas-berkas kolagen kasar dan sejumlah kecil serat elastin membentuk jalinan yang padat ireguler. Pada bagian lebih dalam, jalinan lebih terbuka, rongga-rongga di antaranya terisi jaringan lemak, kelenjar keringat dan sebacea, serta folikel rambut. Serat otot polos juga ditemukan pada tempat-tempat tertentu, seperti folikel rambut, skrotum, preputium, dan puting payudara. Pada kulit wajah dan leher, serat otot skelet menyusupi jaringan ikat pada dermis. Otot-otot ini berperan untuk ekspresi wajah. Lapisan retikular menyatu dengan hipodermis/fasia superfisial di bawahnya yaitu jaringan ikat longgar yang banyak mengandung sel lemak.<sup>41</sup>

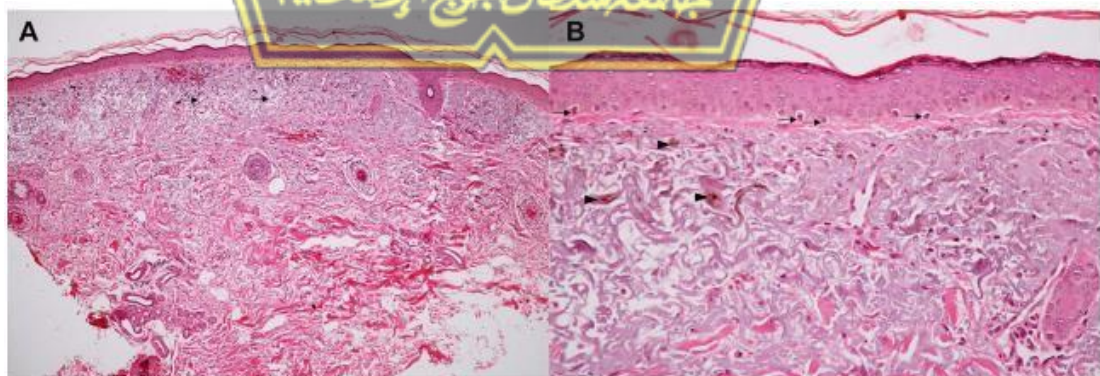
**2.5. Melasma**

Melasma adalah disfungsi melanogenesis pada manusia yang menyebabkan hipermelanosis kulit yang didapat secara lokal dan kronis. Penyakit ini terjadi secara simetris pada area tubuh yang terkena paparan sinar matahari, dan terutama menyerang wanita yang sedang menarce.<sup>43</sup> Melasma muncul dalam bentuk makula berwarna coklat terang sampai gelap dengan pinggir yang iregular, biasanya melibatkan daerah dahi, pelipis, pipi, hidung, di atas bibir, dagu, dan kadang-kadang mengenai leher. Letaknya yang seringkali pada wajah menyebabkan pasien kurang percaya diri sehingga berpengaruh terhadap kualitas hidup pasien.<sup>44</sup>



**Gambar 2.4.** Perubahan Patologis pada Dermis Melasma  
(Sumber: Phansuk et al)<sup>45</sup>

Membran basal diamati menonjol ke dalam lapisan dermal, namun jika dibandingkan dengan hasil imunohistokimia, sel-sel ini kompatibel dengan melanosit. Hal tersebut menyiratkan bahwa gangguan juga dapat menyebabkan melanosit bermigrasi ke lapisan dermal dan menyebabkan hiperpigmentasi pada melasma (Gambar A).<sup>46</sup>



**Gambar 2.5.** Perubahan pada Dermis dengan Lesi Melasma  
(Sumber: Phansuk et al)<sup>45</sup>

Melanofag pada lesi melasma mungkin berbeda pada setiap kasus. Lesi melasma mengandung lebih banyak melanin bebas dan melanofag pada dermis (Gambar B). Agar memperjelas sel yang mengandung melanin digunakan mikroskop multifoton noninvasif (MPM) sehingga dapat mengungkapkan pola melanofag dermal berbeda yang diklasifikasikan berdasarkan ukuran dan distribusinya.

## 2.6. *Ultraviolet-B (UVB)*

Sinar UV terdiri atas UVA (UVAI 340-400nm; UVAIL 320-340nm), UVB (290- 320nm), serta UVC (200-290nm). Paparan sinar matahari, selain mempunyai efek bermanfaat, misalnya sintesis vitamin D, *internal clock setting*, dan peningkatan fungsi sawar kulit, juga menyebabkan efek yang merugikan, misalnya peradangan kulit akut dan kronis, induksi kanker, penuaan dini, kematian sel, serta induksi reaksi samping beberapa obat. Paparan sinar ultra violet (SUV) berpotensi menekan respons imun pada kulit baik lokal maupun sistemik.<sup>47</sup>

## 2.7. *Reactive Oxygen Species (ROS)*

*Reactive oxygen species (ROS)* merupakan molekul yang reaktif secara kimia yang mengandung oksigen, seperti *Superoxide anion (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)*, *Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)* dan *hydrogen radical (OH<sup>-</sup>)*. ROS memiliki peranan yang sangat penting, bukan hanya dalam transduksi sinyal fisiologi, tapi juga dalam petogenesis termasuk kanker, penuaan dan penyakit degeneratif lainnya. DNA mitokondria mengkode protein yang

merupakan komponen penting dari *pathway* pembentukan energi dalam mitokondria, yaitu *oxidative phosphorylation* (OXPHOS) yang menghasilkan ROS sebagai *by-product*, produksi *Adenosine-5'-triphosphate* (ATP) melalui rantai pernafasan mitokondria dan juga menginisiasi kematian sel. Karena peran tersebut, mitokondria disebut sebagai “*power house*” bagi sel. Disamping dihasilkan secara tetap pada makhluk hidup sebagai produk sampingan dari metabolisme sel, ROS juga dihasilkan sebagai konsekuensi dari iradiasi, obat-obatan kemoterapi dan paparan lingkungan terhadap oksidan kimia dan logam transisi. Pada kadar normal, ROS bekerja sebagai *redox messenger* yang terlibat dalam beberapa regulasi dan *pathway* sinyal transduksi intra sel. Peningkatan ROS pada level sedang masih memungkinkan terjadinya proliferasi sel. Pada Konsentrasi yang tinggi atau jumlah yang berlebihan, ROS bertindak sebagai stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan oksidatif pada lemak, protein dan DNA, memicu transformasi onkogenik, meningkatkan aktifitas metabolik dan disfungsi mitokondria.<sup>48</sup>

<b>Radikal</b>		
Superoksida	$O_2^{\bullet}$	Radikal superoksida, merupakan radikal oksigen yang utama, memiliki reaktivitas selektif. Spesies ini diproduksi oleh sejumlah sistem enzim melalui reaksi-reaksi autooksidasi, dan oleh transfer elektron nonezimatis yang mereduksi secara univaleen molekul oksigen. SOD menyebabkan dismutasi $O_2^{\bullet}$ menjadi hidrogen peroksida $H_2O_2$ dan oksigen $O_2$ .
Hidroksil	$OH^{\bullet}$	Radikal yang sangat reaktif yang dapat menyerang semua molekul dalam tubuh
Peroksil, alkoksil	$HO_2^{\bullet}$ , $RO_2^{\bullet}$	Radikal organik, sering terbentuk sebagai intermediet pada penguraian peroksida lipid pada reaksi peroksidasi
Oksida nitrogen	$NO^{\bullet}$ , $NO_2^{\bullet}$	<i>nitric oxide</i> dibentuk <i>in vivo</i> dari asam amino L-arginin. Nitrogen dioksida dibentuk bila NO bereaksi dengan $O_2$ dan ditemukan pada polutan dan asap.
<b>Non radikal</b>		
Hidrogen peroksida	$H_2O_2$	Dibentuk <i>in vivo</i> ketika $O_2^{\bullet}$ mengalami dismutasi dan juga oleh enzim-enzim oksidase. Kadar tinggi $H_2O_2$ dapat menyerang enzim-enzim penghasil energi. $H_2O_2$ juga dapat membentuk $OH^{\bullet}$ bila ada ion metal transisi ( $Fe^{2+}$ ). $O_2$ memfasilitasi reaksi ini.
Asam hipoklorid	$HOCl$	Oksidan kuat yang dibentuk pada neutrofil manusia pada daerah inflamasi oleh reaksi enzim mieloperoksidase. Pada neutrofil, $HOCl$ juga dapat bereaksi dengan $O_2^{\bullet}$ menghasilkan $OH^{\bullet}$
Ozone	$O_3$	Gas yang beracun yang dapat menyebabkan deplesi antioksidan vitamin D, vitamin E dan asam urat.
Oksigen singlet	$^1O_2$	Spin dari salah satu elektron pada orbital terluar oksigen terbalik, menyebabkan hilangnya hambatan <i>quantum mechanical spin</i>

**Gambar 2.6.** Macam-macam ROS

(Sumber : Susilawati)<sup>48</sup>

## 2.8. Pengaruh Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) terhadap Kadar IL-6 dan Kadar VEGF pada Tikus model Melasma

Radiasi UV dapat memperparah produksi melanosit dengan mempengaruhi atau merangsang keratinosit untuk mengeluarkan *melanocyte-stimulating hormone* ( $\alpha$ -MSH) sehingga terjadi peningkatan regulasi tirosinase yang memicu sintesis melanin. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa radiasi UV pun dapat meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS)/*reactive nitrogen species* (RNS) yang berkontribusi pada proliferasi dan transformasi melanosit pada melanogenesis.<sup>49</sup> Induksi paparan tersebut memang dibuktikan berperan besar terhadap hiperpigmentasi dalam patogenesis melasma namun bukan berarti radiasi UV merupakan faktor yang selalu hadir dalam perkembangan

melasma sehingga mekanismenya tidak bisa disamakan dengan kondisi hiperpigmentasi kulit yang terinduksi oleh hal yang lain.<sup>50</sup>

Berbagai jalur pensinyalan terlibat dalam regulasi melanogenesis, dengan siklik AMP (cAMP)/protein kinase A (PKA) jalur persinyalan menjadi salah satu yang paling penting jalur sinyal. Reseptor paling terkenal pada melanosit yang memodulasi fungsinya adalah reseptor melanocortin-1 (MC1R). Ketika merangsang  $\alpha$ -melanosit hormon ( $\alpha$ -MSH) berikatan dengan MC1-R pada membran melanosit, mengaktifkan adenilat siklase, meningkatkan intraseluler cAMP, mengaktifkan protein pengikat elemen respons PKA-cAMP (CREB), dan kemudian meningkatkan MITF, mendorong melanogenesis.<sup>51</sup> MC1R juga merupakan pengatur utama manusia pigmentasi dan juga merupakan gen kerentanan melanoma. Selain itu, jalur sinyal seperti mitogen diaktifkan protein kinase (MAPK), inositol trisfosfat/diasilgliserol (IP3/DAG), WNT, dan protein kinase C (PKC) juga telah terungkap untuk berpartisipasi dalam melanogenesis. Adrenergik  $\alpha$ 1 reseptor dapat mengaktifkan jalur IP3/DAG dan meningkatkan kadar PKC- $\beta$  intraseluler dan mengaktifkan tirosinase.<sup>3</sup>

Penelitian terkini telah mengungkapkan bahwa berbagai mediator inflamasi dapat juga berpartisipasi dalam regulasi melanogenesis pada melanosit. Dalam ulasan ini, kami merangkum bahwa interleukin-18, interleukin-33, merangsang koloni granulosit-makrofag faktor, interferon- $\gamma$ , prostaglandin E2 memiliki efek mempromosikan melanogenesis, sementara interleukin-1, interleukin-4, interleukin-6, interleukin-17 dan faktor nekrosis



tumor bisa menghambat melanogenesis. Penelitian lebih lanjut menemukan hal ini faktor inflamasi dapat mengaktifkan atau menghambat jalur sinyal terkait melanogenesis (seperti protein kinase A dan protein kinase yang diaktifkan mitogen) dengan mengikatnya reseptor, sehingga meningkatkan atau menghambat kadar terkait melanogenesis dan mengatur proses pigmentasi kulit.

Hiperpigmentasi pasca inflamasi biasanya terjadi setelah inflamasi kulit dan dapat terjadi pada semua area kulit jenis kulit. Penelitian telah menunjukkan bahwa sitokin proinflamasi, antiinflamasi, dan angiogenik dapat mempengaruhi pigmentasi melanosit.<sup>3</sup> Interferon (IFN)- $\gamma$  menghambat pematangan melanosom, IL-1 $\beta$  menurunkan regulasi ekspresi MITF dan menghambat pigmentasi melanosit, dan IL-6 menurunkan aktivitas tirosinase.<sup>52</sup> IL-18 meningkatkan aktivitas tirosinase; IL-33 mempromosikan ekspresi MITF, TYR, TYRP-1, dan TYRP-226; dan VEGF merangsang produksi melanin dalam melanosit. Namun interaksi antara makrofag dan pigmentasi masih belum jelas.<sup>53</sup>

Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) tersebut menunjukkan sifat immunomodulator, antioksidan, anti-rematik, antilipidemik, antidiabetik, antipiretik, analgesik, antiinflamasi, antiasma, nootropik, dan diuretik. Sifat-sifat diatas diketahui dikarekanan oleh kandungan flavonoid, kaemferol, flavonol, antosianin, dansiklotida.<sup>38,40</sup>

## BAB III

### KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

#### 3.1. Kerangka Teori

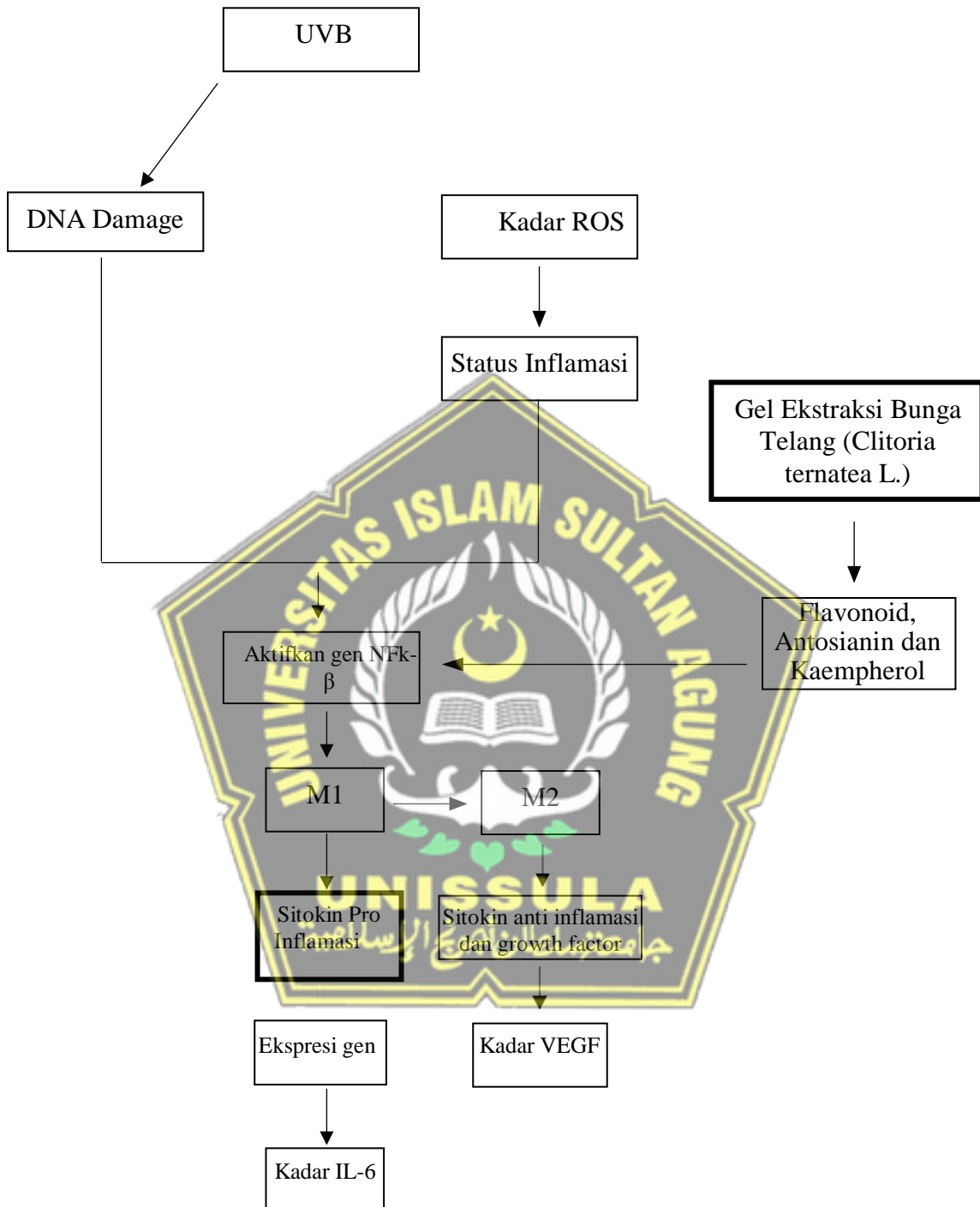
Radiasi UV dapat memperparah produksi melanosit dengan mempengaruhi atau merangsang keratinosit untuk mengeluarkan *melanocyte-stimulating hormone* ( $\alpha$ -MSH) sehingga terjadi peningkatan regulasi tirosinase yang memicu sintesis melanin. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa radiasi UV pun dapat meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS).<sup>49</sup> Kemudian ROS mengaktifkan fungsi pro-inflamasi NF- $\kappa$ B telah dipelajari secara ekstensif pada makrofag, keluarga besar sel imun bawaan yang berada di jaringan yang berbeda dan berfungsi di garis depan respon imun terhadap infeksi. Makrofag menjadi cepat diaktifkan dan mengeluarkan sejumlah besar sitokin dan kemokin. Di bawah kondisi patofisiologis yang berbeda, makrofag yang diaktifkan mampu berdiferensiasi menjadi keadaan fenotipik yang berbeda, termasuk makrofag yang diaktifkan secara klasik (M1) dan makrofag yang diaktifkan secara alternatif (M2). Makrofag M1 ditandai oleh produksi sitokin pro-inflamasi, seperti IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  dan kemokin, yang terlibat dalam berbagai proses inflamasi.<sup>53</sup>

Kandungan Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) flavonoid, kaemferol, flavonol, antosianin, dan siklotida menunjukkan sifat immunomodulator, antioksidan, anti-rematik, antilipidemik, antidiabetik, antipiretik, analgesik, antiinflamasi, antiasma, nootropik, dan diuretik. Kandungan tersebut

menghambat NFκ-β dan terjadi polarisasi M1 menjadi M2, dengan hasil yaitu VEGF, IL-10, dan TGF-β.

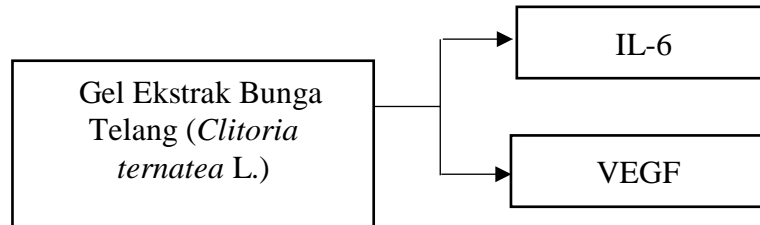
Selain itu, ada kemungkinan ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) mengaktifkan Nrf2 kemudian mengaktifasi gen VEGF yang akan mempengaruhi polarisasi M1 ke M2 sehingga M2 memproduksi sitokin anti inflamasi dan *growth factor*. Namun interaksi antara makrofag dan pigmentasi masih belum jelas.<sup>5</sup>





**Gambar 3.1.** Kerangka Teori

### 3.2. Kerangka Konsep



**Gambar 3.2.** Kerangka Konsep

### 3.3. Hipotesis

1. Pemberian gel topikal ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) 5% dan 10 % dapat menurunkan kadar IL-6 pada tikus galur wistar jantan yang terpapar sinar UVB antar kelompok perlakuan dibanding kontrol.
2. Pemberian gel topikal ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) 5% dan 10 % dapat meningkatkan kadar VEGF pada tikus galur wistar jantan yang terpapar sinar UVB antar kelompok perlakuan dibanding kontrol.



## BAB IV

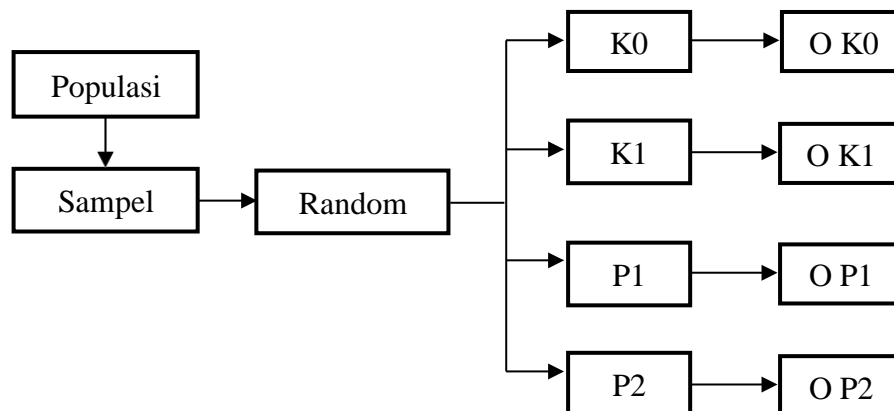
### METODE PENELITIAN

#### 4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vitro* yang digunakan adalah metode *Post Test Only Control Group Design*. Merupakan rancangan penelitian dimana hasil penelitian diamati setelah perlakuan selesai. Objek penelitian adalah Tikus Galur Wistar dengan bobot badan 200-250gr.

Perlakuan terdiri dari:

1. K0 (Tikus sehat tidak diberi paparan UV-B)
2. KN (Kontrol Positif, tikus dipapar UV-B dengan pemberian base gel secara topikal)
3. P1 (Perlakuan 1, tikus dipapar UV-B dengan perlakuan gel ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) 5% secara topikal)
4. P2 (Perlakuan 2, tikus dipapar UV-B dengan perlakuan gel ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) 10% secara topikal)



**Gambar 4.1.** Skema Rancangan Penelitian

## 4.2. Populasi dan Sampel

### 4.2.1. Populasi dan Sampel

Populasi dan sampel yang digunakan Tikus Jantan Galur Wistar yang diperoleh dari Laboratorium PSPG Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

### 4.2.2. Besar Sampel

Besar sampel menurut WHO kelompok minimal 5 ekor dengan cadangan 10% (1 ekor). Sampel kemudian diambil secara acak menggunakan cara *simple random sampling*, dibagi dalam menjadi 4 kelompok yaitu 2 kelompok kontrol dan 2 kelompok perlakuan. Jumlah keseluruhan sampel tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 24 ekor.<sup>54</sup>

### 4.2.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Teknik pengambilan sampel penelitian ini menggunakan cara *simple random sampling*. Tikus jantan galur *wistar* sebanyak 24 ekor yang masuk kriteria inklusi dibagi menjadi 4 kelompok secara acak sederhana, dengan dua kelompok kontrol dan dua sebagai kelompok perlakuan.

### 4.2.4. Kriteria Inklusi

- a. Tikus sehat, bergerak aktif, makan dan minum cukup
- b. Secara makroskopis tikus tidak ada kelainan morfologi

#### 4.2.5. Kriteria Eksklusi

- a. Memiliki kelainan anatomis
- b. Sudah pernah digunakan sebagai hewan coba penelitian sebelumnya.

#### 4.2.6. Drop Out

- a. Tikus mati saat penelitian berlangsung
- b. Tikus menjadi sakit selama perlakuan

### 4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

#### 4.3.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis Gel Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*).

#### 4.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar Interleukin-6 dan kadar VEGF.

#### 4.3.3. Definisi Operasional

##### 1. Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*)

Diekstraksi menggunakan pelarut etanol yang dibuat sediaan gel dengan dosis 5% dan 10%. Gel ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) 200mg dioleskan di punggung tikus 1x sehari, selama 14 hari.

Unit : mg



Skala : Ordinal

## 2. *Interleukin-6*

Kadar IL-6 diperiksa dari sampel darah diambil jaringan kulit pada hari ke 20 dan dianalisis menggunakan *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA)

Unit : Persen Ekspresi

Skala : Rasio

## 3. VEGF

VEGF (*Vascular endothelial growth factor*) adalah molekul pencetus angiogenesis. Dianalisis Kadar VEGF dengan teknik *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA)

Unit : Persen Ekspresi

Skala : Rasio

## 4.4. Alat dan Bahan Penelitian

### 4.4.1. Alat

Alat untuk pembiakan data:

1. Swing sentrifuge
2. Vacutainer EDTA
3. Tabung Hematokrit
4. Pot 5mL
5. 6 mm biopshy punch
6. Mikropipet
7. 1000  $\mu$ L micropipet tip

8. Vial Tube 1,5mL

#### 4.4.2. Bahan

Bahan untuk yang digunakan dalam penelitian:

1. Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*)
2. RNA later
3. Phosphate buffered saline (PBS) 20%
4. DNA isolation
5. ELISA analisis kit
6. Aquades
7. Ketamin
8. Xylazine water base gel
9. Etanol
10. Pakan Tikus
11. Klorofom

#### 4.5. Prosedur Penelitian

##### 4.5.1. Cara Pembuatan Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*)

Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) sebanyak  $\pm$  3000 gram dicacah, didehidrasi pada suhu 50 – 60° C dan dihaluskan menjadi bubuk kering. Bubuk kering diekstraksi melalui proses maserasi menggunakan etanol 70% kemudian disaring dan filtrat yang dihasilkan ditampung, residu kemudian dimaserasi kembali dengan metode yang sama. Kandungan etanol dihilangkan dengan cara

diuapkan menggunakan rotaryevaporator hingga membentuk ekstrak kental. Ekstrak kental yang terbentuk kemudian disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 2-8°C..

#### 4.5.2. Penetapan Dosis

Dosis pemberian ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) secara topical ditentukan sebelum penelitian dengan studi literatur. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa dosis ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) sebanyak 5% untuk penggunaan secara topikal mampu menunjukkan aktivitas anti- inflamasi yang berujung pada perbaikan kolagen kulit. Terdapat penelitian lainnya yang mengaplikasikan ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) konsentrasi 1%, 2,5%, 5%, 7,5%, dan 10% sebagai bahan baku produk perawatan kecantikan alami menunjukkan hasil bahwa larutan fermentasi Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) tidak hanya menghambat kemerahan, gatal, alergi, dan iritasi pada kulit, tetapi juga memiliki sifat antioksidan danmeningkatkan retensi kelembaban dan efek pemutihan, dan hasilnya meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Sehingga penelitian ini menggunakan dosis 5 % dan 10 % pada pemberian ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) secara topical. Penggunaan topikal gel Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) dilakukan setiap hari sebanyak 200 mg/tikus, sehingga dosis ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) yang digunakan adalah 10 mg/tikus untuk dosis5% dan 20 mg/tikus untuk

dosis 10%.

#### 4.5.3. Pembagian Kelompok

Kelompok perlakuan dibagi mmenjadi 4 dan tiap kelompok terdiri dari 6 buah sampel.

1. Kelompok I : Tikus Sehat (tidak mendapatkan paparan apapun ).
2. Kelompok II : Kelompok Kontrol(Kontrol Positif, tikus dipapar UV-B dengan pemberian base gel secara topikal)
3. Kelompok III :Kelompok perlakuan 1 (Perlakuan 1, tikus dipapar UV-B dengan perlakuan gel ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) 5% secara topikal)
4. Kelompok IV : kelompok perlakuan 2 (Perlakuan 2, tikus dipapar UV-B dengan perlakuan gel ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) 10% secara topikal)

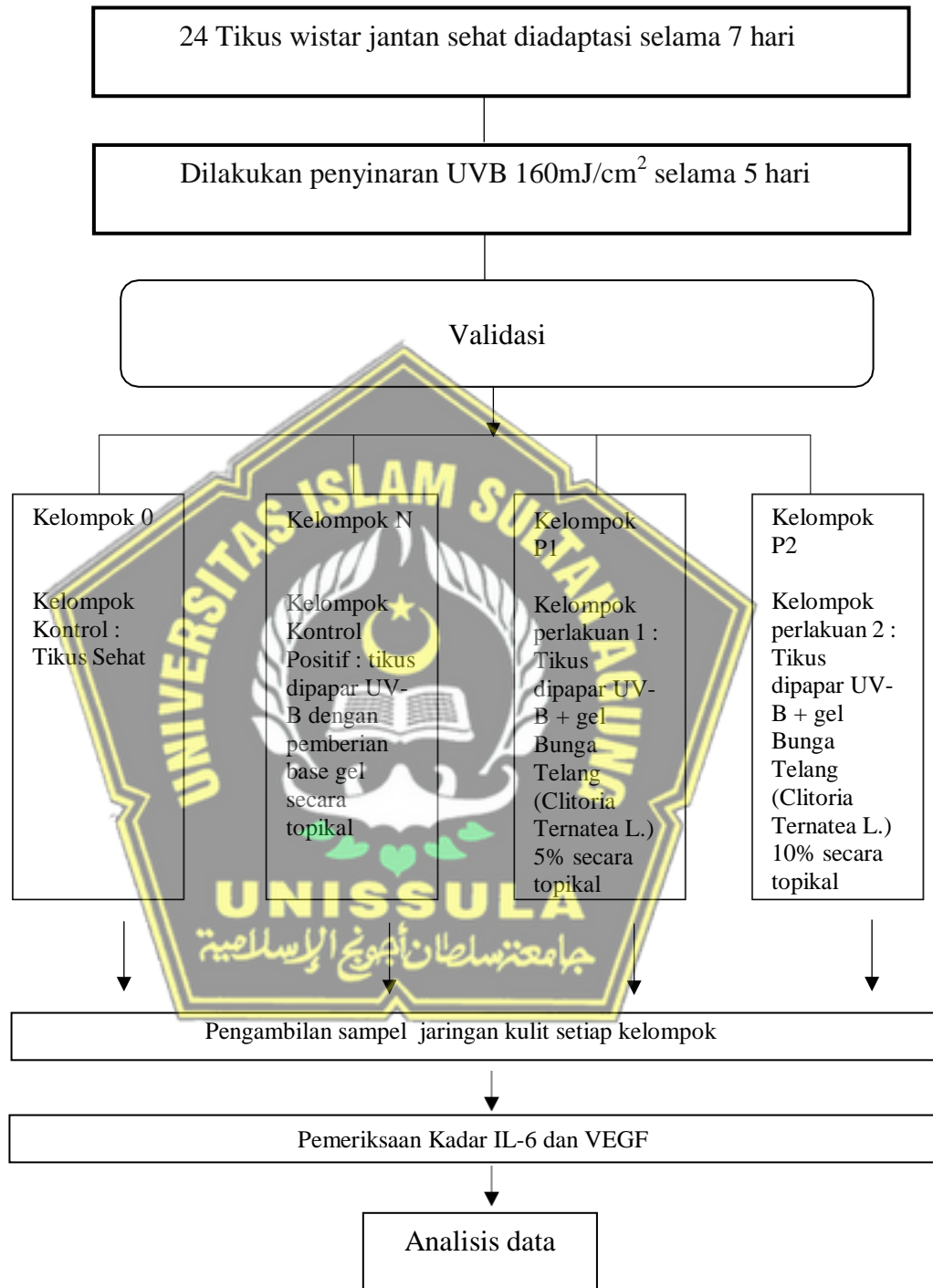
#### 4.6. Ekstraksi RNA dan Sintesis cDNA Pada Pemeriksaan VEGF

1. Tahap lisis sampel sebanyak 200  $\mu$ L darah ke dalam tabung eppendorf 1.5 ml. Ditambahkan 30  $\mu$ L Proteinase K dan pipet naik turun/bolakbalik. Inkubasi pada suhu 60°C selama 15 menit.
2. Tambahkan 200  $\mu$ L GB buffer dan vortex. Inkubasi pada suhu 70°C selama 15 menit. Selama inkubasi, tube dibolak balik setiap 3 menit.
3. Tambahkan 200  $\mu$ L ethanol absolute ke dalam Lysate sampel dan vortex selama 10 detik.
4. Selanjutnya GD column dipasangkan dengan collection tube 2 ml.

5. Sampel pindahkan ke dalam GD column dan disentrifus pada kecepatan 16000xg selama 5 menit.
6. *Collection tube* dibuang dan dipindahkan GD column ke collection tube baru.
7. Tahap berikutnya yaitu pencucian (*wash*) dengan penambahan 400  $\mu$ L W1 buffer ke GD column, disentrifus pada 16000xg selama 30 detik dan cairan bagian bawah dibuang kemudian ditempatkan kembali ke GD column, sentrifuge dengan kecepatan 16000xg selama 3 menit.
8. Tahap terakhir yaitu dengan memindahkan GD column ke tube eppendorf 1.5 ml baru dan bersih. 107 Tambahkan 100  $\mu$ L elution buffer (yang telah dipanaskan sebelumnya).
9. Dibiarkan 3 – 5 menit, kemudian sentrifus pada 16000xg selama 30 – 60 detik untuk mendapatkan DNA murni. GD column dibuang dan larutan yang terdapat pada tabung eppendorf adalah produk DNA siap untuk diamplifikasi.<sup>5</sup>



#### 4.7. Alur Penelitian



**Gambar 4.2.** Alur Penelitian

#### 4.8. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Penelitian dilakukan pada Januari 2024.

#### 4.9. Analisis Data

Data yang sudah didapat, diproses, disunting, ditabulasi, dan dibersihkan, kemudian dilakukan uji deskriptif. Kemudian dilakukan uji normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji varian data dengan uji *Levene*. Sebaran data normal dan varian data sama, akan dilakukan uji beda uji *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok. Terdapat sebaran data tidak normal dan varian tidak sama, dilakukan uji *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok. Pengolahan analisis data dilakukan dengan menggunakan *SPSS for Windows*.

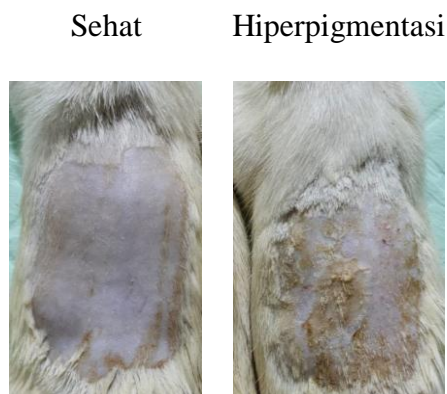


## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan tikus Wistar jantan sebagai subjek penelitian yang diinduksi hiperpigmentasi menggunakan UV-B 302 nm dengan intensitas energi UVB  $160 \text{ mJ/cm}^2$  selama 5 hari. Jumlah tikus yang digunakan adalah 24 ekor tikus sesuai dengan kriteria. Penelitian ini terdiri dari 4 kelompok dengan 2 kelompok perlakuan, 1 kelompok sehat, dan 1 kelompok UVB positif. Kelompok perlakuan pertama (P1) terdiri atas 6 hewan uji dengan pemberian gel Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) 5% dan kelompok kedua (P2) terdiri atas 6 hewan uji dengan pemberian gel Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) 10%. Kelompok UVB positif adalah 6 hewan uji yang mendapatkan paparan UVB dengan gel base tanpa pengobatan, sedangkan kelompok sehat adalah kelompok tikus sehat tanpa perlakuan dan intervensi. Pada penelitian ini tikus diadaptasi selama 7 hari dan diberikan perlakuan sinar UVB, selanjutnya diberikan perlakuan pemberian gel Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) 5% dan 10% pada K1 dan K2 selama 14 hari. Pada hari ke-21 dilakukan pengambilan sampel dan selanjutnya dilakukan analisis data. Pada hari ke-14, tikus dilakukan validasi hiperpigmentasi. Adapun gambaran kulit tikus mengalami hiperpigmentasi sebagai berikut :





**Gambar 5.1.** Validasi hiperpigmentasi pada kulit tikus (A) Tikus sehat dan (B) Tikus yang mendapatkan irradiasi UVB.

### 5.1. Hasil Penelitian

**Tabel 5.1. Hasil Penelitian Kadar IL-6 dan VEGF**  
Kelompok

Variabel	K0	KN	P1	P2	P
	Mean $\pm$ SD n = 6	Mean $\pm$ SD n = 6	Mean $\pm$ SD n = 6	Mean $\pm$ SD n = 6	
<b>Kadar IL-6</b>	25,30 $\pm$ 0,55	61,89 $\pm$ 0,69	32,49 $\pm$ 1,02	27,82 $\pm$ 36,87	
<i>Saphiro Wilk</i>	0,392	0,928	0,867	0,784	
<i>Levene's Test</i>					0,690
<i>One Way Anova</i>					0,000
<b>Ekspresi VEGF</b>	23,47 $\pm$ 0,99	37,44 $\pm$ 2,43	30,96 $\pm$ 0,57	27,00 $\pm$ 1,55	
<i>Saphiro Wilk</i>	0,672	0,516	0,982	0,993	
<i>Levene's Test</i>					0,022*
<i>Kruskal Wallis</i>					0,000

Berdasarkan hasil penelitian yang di tunjukkan pada tabel 5.1. Rerata kadar IL-6 di kelompok kontrol positif (N) yang tertinggi, kemudian diikuti oleh rerata gen IL-6 kelompok P1. Selanjutnya rerata kadar IL-6 kelompok P2 dan rerata kadar IL-6 kelompok sehat (0). Data ekspresi IL-10 keempat kelompok semuanya berdistribusi normal, ditunjukkan dengan hasil *Shapiro Wilk* diperoleh nilai  $p > 0,05$  dan juga memiliki varian data yang homogen ditunjukkan dengan hasil *Levene's Test* sebesar  $p > 0,05$ . Distribusi dan

varian data kadar IL-6 dan homogen, maka dilakukan analisis statistik parametrik dengan uji *One Way Anova* menghasilkan nilai  $p=0,000$  ( $p<0,05$ ) sehingga dinyatakan terdapat perbedaan rerata kadar IL-6 yang bermakna diantara keempat kelompok. Hasil uji *Oneway Anova* yang signifikan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk melihat dosis gel Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) yang paling berpengaruh.

Berdasarkan hasil penelitian yang di tunjukkan pada tabel 5.1. Rerata kadar VEGF di kelompok kontrol positif (N) yang tertinggi, kemudian diikuti oleh rerata gen VEGF kelompok P1. Selanjutnya rerata kadar VEGF kelompok P2 dan rerata kadar VEGF kelompok sehat (0). Data ekspresi VEGF keempat kelompok semuanya berdistribusi normal, ditunjukkan dengan hasil *Shapiro Wilk* diperoleh nilai  $p>0,05$  dan memiliki varian data yang tidak homogen ditunjukkan dengan hasil *Levene's Test* sebesar  $p<0,05$  sehingga dilanjutkan dengan Uji *Kruskal Wallis*. Distribusi dan varian data kadar VEGF yang tidak homogen, maka dilakukan analisis statistik non parametrik dengan uji *Kruskal Wallis* menghasilkan nilai  $p=0,000$  ( $p<0,05$ ) sehingga dinyatakan terdapat perbedaan rerata kadar IL-6 yang bermakna diantara keempat kelompok. Hasil uji *Kruskal Wallis* yang signifikan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk melihat dosis gel Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) yang paling berpengaruh.

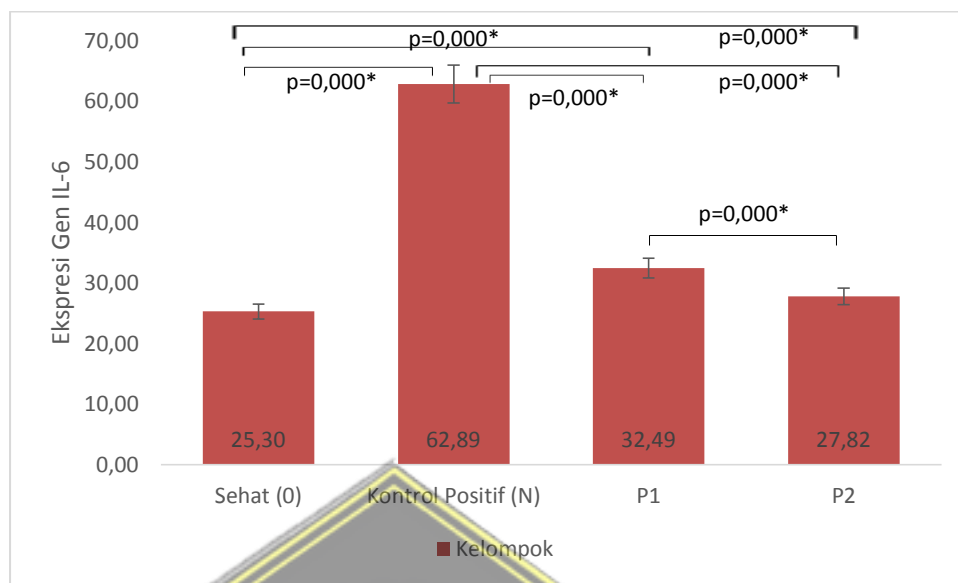
**Tabel 5.2. Uji Post-hoc LSD kadar IL-6 dan Uji *Mann Whitney* kadar VEGF antar kelompok penelitian**

	<b>Kelompok</b>	<b>Kelompok Perbandingan</b>	<b>Signifikansi</b>
<b>IL-6</b>	Sehat (K0)	KN	0,000*

		P1	0,000*	
		P2	0,000*	
	Kontrol Positif (KN)	P1	0,000*	
		P2	0,000*	
	P1	P2	0,000*	
<b>VEGF</b>	Sehat (K0)	KN	0,002*	
		P1	0,002*	
		P2	0,002*	
	Kontrol Positif (KN)	P1	0,002*	
		P2	0,002*	
		P1	0,002*	
		P1	P2	0,002*

### 5.1.1. Kadar IL-6

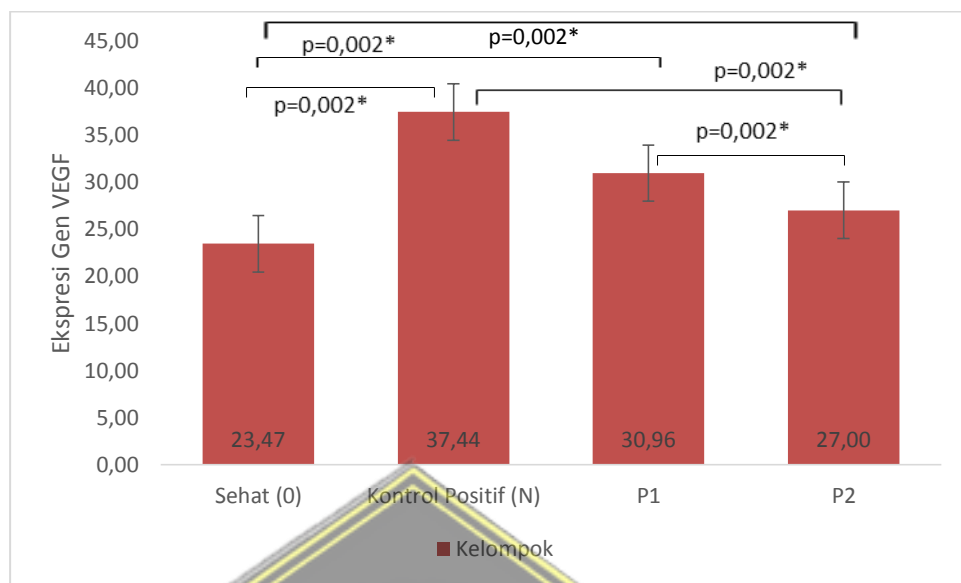
Uji *Post Hoc* diperoleh nilai  $p < 0,05$  untuk perbandingan rerata kadar IL-6 antara Kelompok Sehat (K0) dengan Kontrol Positif (KN), P1, dan P2 (0,000). Rerata Kelompok Sehat dengan Kontrol Positif (0,000) ada perbedaan yang bermakna Kontrol Positif dan P1 (0,000) terdapat perbedaan yang bermakna. Pada P1 dan P2 (0,000) ada perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok tersebut. Hasil uji *Post Hoc LSD* pada data kadar IL-6 menunjukkan bahwa dosis gel Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) 5% dan 10 % dapat menurunkan kadar IL-6 pada tikus jantan galur wistar hiperpigmentasi. Meskipun kedua pemberian dosis mampu menurunkan kadar IL-6, perlakuan P2 memiliki pengaruh yang signifikan dibandingkan dengan perlakuan P1.



**Gambar 5.2.** Uji *Post Hoc* Kadar IL-6

### 5.1.2. Kadar VEGF

Uji *Mann Whitney* diperoleh nilai  $p < 0,05$  untuk perbandingan rerata kadar IL-6 antara Kelompok Sehat (K0) dengan Kontrol Positif (KN), P1, dan P2 (0,002). Rerata Kelompok Sehat dengan Kontrol Positif (0,002) ada perbedaan yang bermakna Kontrol Positif dan P1 (0,002) terdapat perbedaan yang bermakna. Pada P1 dan P2 (0,002) ada perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok tersebut. Hasil uji *Mann Whitney* pada data kadar IL-6 menunjukkan bahwa dosis gel Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) 5% dan 10 % dapat meningkatkan kadar VEGF pada tikus jantan galur wistar hiperpigmentasi. Meskipun kedua pemberian dosis mampu meningkatkan kadar VEGF, perlakuan P2 memiliki pengaruh yang signifikan dibandingkan dengan perlakuan P1.



**Gambar 5.3.** Uji *Mann Whitney* Kadar VEGF

## 5.2. Pembahasan

Paparan berulang terhadap UV-B merangsang reseptor sitokin dengan meningkatkan transkripsi AP-1 dan NF- $\kappa$ B, sehingga menghasilkan produksi MMP-1 dan degradasi kolagen.<sup>17</sup> Paparan UV-B menghasilkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan DNA dengan menghubungkan basa pirimidin yang berdekatan.<sup>49,55</sup> Sinar UV menginduksi photoaging melalui akumulasi ROS dan menyebabkan penurunan transforming growth factor- beta (TGF- $\beta$ ) dan peningkatan AP-1 (protein aktivator). AP-1 menghambat pensinyalan TGF- $\beta$ , pengatur utama untuk produksi prokolagen tipe I pada kulit manusia. Penurunan jalur TGF- $\beta$  menyebabkan penurunan sintesis pro-kolagen.<sup>56</sup> Disamping itu, faktor transkripsi nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B) yang diaktifkan sebagai respons terhadap iradiasi ultraviolet juga berperan penting dalam proses photoaging. *Reactive Oxygen Species* (ROS) menginduksi aktivasi transkripsi dan

regulasi transkripsi NF- $\kappa$ B.<sup>57</sup>

Gel ekstrak *Clitoria ternatea* L. mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid dan fenol. Flavonoid dan fenol berperan sebagai pengkhelat ion logam dan menstabilkan atom hidrogen dari gugus hidroksil sehingga tidak terbentuk ROS dan menghambat terjadinya fotoaging.<sup>58</sup> Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa hasil analisis fitokimia krim ekstrak *Clitoria ternatea* L. 5% mengandung kadar flavonoid 7421,33 mg/100g, fenol 1883,23 mg/100g GAE, asam tanat 2445,07 mg/100g TAE, kapasitas antioksidan 8719,71 Mg/L GAEAC, dan IC50 73,7915 ppm. Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) telah lama digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai penyakit. Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) juga telah diteliti khasiatnya sebagai antidiabetes, antibakteri, dan antioksidan.<sup>59</sup> Flavonoid merupakan senyawa fenolik sebagai antioksidan karena dapat mengikat logam atau menyumbangkan atom hidrogen, mencegah kerusakan sel akibat radikal bebas.<sup>60</sup> Fenol telah terbukti sebagai antioksidan pemecah rantai dan pemulung yang dapat mencegah radikal bebas.<sup>58</sup> Tanin merupakan metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antioksidan biologis.<sup>61</sup> Antosianin memberi warna biru, ungu, dan merah pada tanaman dan merupakan pigmen esensial yang larut dalam air. Antosianin memiliki susunan ikatan rangkap terkonjugasi yang panjang dan dapat bertindak sebagai antioksidan dengan mekanisme penangkal radikal.<sup>17</sup>

Pada hasil penelitian kadar IL-6 pada pemberian gel ekstrak topikal Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) dosis 5% dan 10% mengalami

penurunan yang signifikan. Aktifitas ini disebabkan oleh adanya senyawa fenolik dalam propolis berupa flavonoid yang dapat melapisi struktur sel sehingga tubuh memiliki pertahanan terhadap mikroorganisme. Flavonoid banyak berpengaruh terhadap pengaktifan sistem imun, yang mana flavonoid merupakan antioksidan. Penelitian lain menyebutkan bahwa flavonoid dapat menurunkan prostaglandin, leukotrin, sitokin proinflamasi (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1, IL-10 dan IL-8).<sup>62</sup> Penelitian lainnya menyebutkan bahwa potensi Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) sebagai bahan nutrasetikal untuk perlindungan terhadap penyakit peradangan kronis dengan menekan produksi mediator pro-inflamasi yang berlebihan dari sel makrofag sebagai kompleks dengan sumber antosianin lain, ekstrak juga menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang potensial.<sup>63</sup> Selain itu, flavonoid dapat memblokir transkripsi NF-K $\beta$  yang diinduksi oleh bakteri *Porphyromonas gingivalis*, menghambat IL-12, dan ekspresi TNF- $\alpha$  melalui sel epitel dan sel dendritik sehingga meminimalisir sel-sel sitokin dan kemokin yang mencapai permukaan lumen melalui epitel saluran pernafasan sehingga mencegah kerusakan sel epitel dan terjadinya respon inflamasi.<sup>64</sup>

Pada hasil penelitian kadar VEGF pada pemberian gel ekstrak topikal Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) dosis 5% dan 10% mengalami peningkatan yang signifikan. Antioksidan yang mengikat radikal bebas yang terbentuk dari kerusakan DNA akibat ikatan DMBA reaktif dengan DNA. Radikal bebas tersebut merupakan faktor yang dapat memicu peningkatan

kadar *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF).<sup>65</sup> VEGF memiliki ciri penting dalam pembentukan jaringan granulasi, misalnya jaringan fibrovaskular yang mengandung fibroblas, kolagen dan pembuluh darah, yang merupakan ciri khasnya dari respon penyembuhan yang optimal dan selanjutnya menyediakan saluran untuk nutrisi dan mediator lain dari respon penyembuhan serta penghilangan metabolit. Penghambatan angiogenesis mengganggu penyembuhan luka.<sup>66</sup> Angiogenesis adalah fitur yang menonjol dari respon penyembuhan luka. VEGF telah menjadi terbukti berperan dalam beberapa aspek proses perbaikan. VEGF mRNA dan protein meningkat pada titik waktu awal pasca cedera kulit, dan kadar protein VEGF meningkat dan tetap tinggi dalam cairan luka setidaknya selama seminggu pada luka bedah. Ekstrak metanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) dilaporkan memiliki aktivitas menekan angiogenesis pada lini sel EAC (*Ehrlich Ascites Carcinoma*) dengan cara meregulasi sekresi VEGF.<sup>67</sup> VEGF biasanya diekspresikan pada tingkat rendah oleh keratinosit epidermal, diregulasi dalam sel-sel ini pada luka kulit. Studi pada luka pada manusia dan hewan model telah menunjukkan bahwa VEGF diproduksi oleh keratinosit pada awal proses penyembuhan luka, namun bukti yang lebih baru menunjukkan bahwa keratinosit juga menghasilkan VEGF di kemudian hari tahap penyembuhan. Fibroblas, sel mast, dan makrofag yang teraktivasi juga mengekspresikan VEGF pada kulit yang terluka.<sup>68</sup> VEGF juga mempengaruhi interaksi antara sel endotel dan sirkulasi sel inflamasi. VEGF meningkatkan penggulungan leukosit dan adhesi pada endotel



dengan mempengaruhi ekspresi selektin dan adhesi antar sel molekul pada sel endotel. Ini sangat penting untuk kemampuan sirkulasi sel inflamasi untuk berpindah dari aliran darah ke jaringan, suatu ciri dari respon inflamasi. VEGF juga meningkatkan jumlah sel mast dermal, yang terlibat dalam beberapa fase penyembuhan luka. Selain itu, peningkatan kepadatan makrofag telah diamati pada luka yang dibuat pada tikus transgenik yang mengekspresi VEGF secara berlebihan di epidermis, menunjukkan bahwa VEGF berperan dalam merekrut makrofag ke kulit yang rusak.<sup>69</sup> VEGF berkorelasi dengan jumlah jaringan parut yang diproduksi pada model tikus penyembuhan luka janin dan dewasa. VEGF berperan dalam pembentukan jaringan parut secara tidak langsung berdasarkan kemampuannya untuk merangsang angiogenesis. Aktivitas VEGF dianggap spesifik untuk sel endotel yang melapisi bagian dalam pembuluh darah dan dapat diekspresikan dalam berbagai bentuk jenis sel lain yang terlibat dalam perbaikan luka. Misalnya keratinosit dan makrofag, yang keduanya menjalankan fungsi penting selama luka penyembuhan, dan mampu merespons VEGF secara langsung.

Dengan adanya pemaparan sinar UVB pada tikus hiperpigmentasi, perlu penelitian lebih lanjut tentang pengaruh gel ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) 5% dan 10 % terhadap mekanisme molekuler pemberian ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) secara *in vivo* terhadap kolagen.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. Kesimpulan

1. Pemberian gel topikal ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) 5% dan 10 % berpengaruh menurunkan signifikan terhadap kadar IL-6 pada tikus galur wistar jantan yang terpapar sinar UVB antar kelompok perlakuan dibanding kontrol (sig P=0,000).
2. Pemberian gel topikal ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) 5% dan 10 % berpengaruh meningkatkan signifikan terhadap kadar VEGF pada tikus galur wistar jantan yang terpapar sinar UVB antar kelompok perlakuan dibanding kontrol (sig P=0,002).

#### 6.2. Saran

1. Perlu dilakukan pemeriksaan lebih lanjut tentang kolagen kulit setelah dilakukan pemberian gel topikal ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) pada tikus galur Wistar model hiperpigmentasi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan dosis topikal ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) lebih besar dari 20% pada tikus galur Wistar model hiperpigmentasi

## DAFTAR PUSTAKA

1. Chen, S., He, Z. & Xu, J. Application of adipose-derived stem cells in photoaging: basic science and literature review. *Stem Cell Res. Ther.* **11**, 1–15 (2020).
2. Saputra, I. B., Furqaani, A. R. & Hikmawati, D. Kajian Lama Paparan Radiasi Ultraviolet (UV) sebagai Faktor Risiko Melasma. *Unisba* **7**, 167–169 (2021).
3. Fu, C. *et al.* Roles of inflammation factors in melanogenesis (Review). *Mol. Med. Rep.* **21**, 1421–1430 (2020).
4. Feng, X. X. *et al.* Effects of topical application of patchouli alcohol on the UV-induced skin photoaging in mice. *Eur. J. Pharm. Sci.* **63**, 113–123 (2014).
5. Zhu, J. W. *et al.* Tranexamic acid inhibits angiogenesis and melanogenesis in vitro by targeting VEGF receptors. *Int. J. Med. Sci.* **17**, 903–911 (2020).
6. Arhani, A. & Pratama, I. H. An Investigation on The Impact of Orally Administered Celery and Orange Juices on The Production of Collagen in Rats Exposed to Ultraviolet-B Light. **14**, 588–597 (2023).
7. Kumarasinghe, S. P. W. *et al.* A global consensus statement on ashly dermatosis, erythema dyschromicum perstans, lichen planus pigmentosus, idiopathic eruptive macular pigmentation, and Riehl's melanosis. *Int. J. Dermatol.* **58**, 263–272 (2019).
8. Passeron, T. *et al.* Photoprotection according to skin phototype and dermatoses: practical recommendations from an expert panel. *J. Eur. Acad. Dermatology Venereol.* **35**, 1460–1469 (2021).
9. Rinandari, U., Fatiharani Dewi, P., Kusumawardani, A., Eko Irawanto, M. & Mochtar, M. Terapi L-Ascorbic Acid 10% dan Glutation 2% Dibandingkan dengan Hidrokuinon 4% pada Pasien Melasm. *J. Heal. Sains* **2**, 1091–1108 (2021).
10. Liu, H. *et al.* Histological classification of melasma with reflectance confocal microscopy: A pilot study in Chinese patients. *Ski. Res. Technol.*

- 17, 398–403 (2011).
11. Wu, X. J., Jing, J., Lu, Z. F. & Zheng, M. VEGFR-2 Is in a State of Activation in Hair Follicles, Sebaceous Glands, Eccrine Sweat Glands, and Epidermis from Human Scalp: An In Situ Immunohistochemistry Study of Phosphorylated VEGFR-2. *Med. Sci. Monit. Basic Res.* **25**, 107–112 (2019).
  12. Oguis, G. K., Gilding, E. K., Jackson, M. A. & Craik, D. J. Butterfly pea (*Clitoria ternatea*), a cyclotide-bearing plant with applications in agriculture and medicine. *Front. Plant Sci.* **10**, 1–23 (2019).
  13. Akmal, T., Julianti, A. I. & Syamsudin, S. S. Polyherbal Formulation Optimization From *Clitoria Ternatea*, *Rosmarinus Officinalis* and *Aquilaria Malaccensis* Using Simplex Lattice Design. *Int. J. Appl. Pharm.* **15**, 79–84 (2023).
  14. Kang, Y. & Lu, T. Channel Estimation and Data Transmission in Massive MIMO TDD Systems. *Int. J. Commun. Netw. Syst. Sci.* **12**, 170–187 (2019).
  15. Cahyaningsih, E., Yuda, P. E. S. K. & Santoso, P. SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea L.*) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS. *J. Ilm. Medicam.* **5**, 51–57 (2019).
  16. Suherlan, S., Muhammad Fakhri, T. & Herawati Effendi, D. Uji In-Silico Aktivitas Melanogenesis Senyawa Ternatin Bunga Kembang Telang (*Clitoria ternatea*) terhadap Reseptor Tirosinase. *Pros. Farm.* 849–856 (2021).
  17. Subchan, P. *et al.* Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) Menghambat Peningkatan Kadar MMP-1 pada Kulit Tikus Wistar yang Terpapar Sinar Ultraviolet B. *J. Midwifery Heal. Sci. Sultan Agung* 13–21 (2022).
  18. Ritonga, N. B., Rini, R. & Anggraini, T. Formulation and Evaluation of Sun Block Lotion Made from Virgin Coconut Oil (VCO) with the addition of the Extract of Telang Flower (*Clitoria ternatea, L*) and Pandan Leaves

- (Pandanus paradisiaca, L). *AJARCADE / Asian J. Appl. Res. Community Dev. Empower.* **4**, 54–59 (2020).
19. Chen, L. H., Chen, I. C., Chen, P. Y. & Huang, P. H. Application of butterfly pea flower extract in mask development. *Sci. Pharm.* **86**, (2018).
  20. Maulidia, M., Wibowo, J. W. & Sumarawati, T. Effect of Virgin Coconut Oil Administration to Increase HDL, Decrease LDL and IL-6 in Hypercholesterol Male Wistar Rats. *Indones. J. Med.* **7**, 471–478 (2022).
  21. Yuniarti, E. Pengaruh Latihan Submaksimal Terhadap Kadar Interleukin-6 Pada Siswa Pusat Pendidikan Latihan Pelajar Sumatera Barat. *J. Sainstek Vol. VI No. 2 189-192, Desember 2014 VI*, 189–192 (2014).
  22. Fihn, S. D. *et al.* ACC/AHA/AATS/PCNA/SCAI/STS Focused Update of the Guideline for the Diagnosis and Management of Patients With Stable Ischemic Heart Disease A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, and the. *Circulation* **130**, 1749–1767 (2014).
  23. Oky, P. *et al.* Kadar Interleukin 6 (Il-6) Sebagai Indikator Progresivitas Penyakit Reumatoid Arthritis (Ra). *Ilm. Kedokt.* **3**, 40–47 (2014).
  24. Suyasa, I. K. *Kadar Interleukin-6 Plasma Yang Tinggi Dan Rasio Kadar Interleukin-6 / Interleukin-10 Plasma Yang Tinggi Merupakan Faktor Risiko Terjadinya Osteoarthritis Lumbal Simtomatik Pada Penderita Wanita Pasca Menopause Defisiensi Estrogen.* (2016).
  25. Niu, W. *et al.* Association of interleukin-6 circulating levels with coronary artery disease: A meta-analysis implementing mendelian randomization approach. *Int. J. Cardiol.* **157**, 243–252 (2012).
  26. Wahyuniati, N. & Maulana, R. Peran Interleukin-10 Pada Infeksi Malaria. *J. Kedokt. Syiah Kuala* 96–103 (2015).
  27. Masfufatun, M., Tania, P. O. A., Raharjo, L. H. & Baktir, A. Kadar IL-6 dan IL-10 Serum pada Tahapan Inflamasi di Rattus norvegicus yang terinfeksi *Candida albicans*. *J. Kedokt. Brawijaya* **30**, 19–23 (2018).
  28. Kang, S., Tanaka, T., Narazaki, M. & Kishimoto, T. Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic. *Immunity* **50**, 1007–1023 (2019).

29. Kusumaningrum, W. Peran interleukin 6 dalam menentukan keluaran modified rankin scale pada sirkulasi parsial anterior stroke iskemik akut. *Tesis Univ. Indones.* (2014).
30. Chamarthi, B. *et al.* Inflammation and Hypertension: The Interplay of Interleukin-6, Dietary Sodium and the Renin-Angiotensin System in Humans. *Am J Hypertens* **24**, 1–7 (2011).
31. Lesslie, D. P. *et al.* Vascular endothelial growth factor receptor-1 mediates migration of human colorectal carcinoma cells by activation of Src family kinases. *Br. J. Cancer* **94**, 1710–1717 (2006).
32. Wang, X., Bove, A. M., Simone, G. & Ma, B. Molecular Bases of VEGFR-2-Mediated Physiological Function and Pathological Role. *Front. Cell Dev. Biol.* **8**, 1–12 (2020).
33. Shibuya, M. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis: A Crucial Target for Anti- and Pro-Angiogenic Therapies. *Genes and Cancer* **2**, 1097–1105 (2011).
34. Comşa, Ş., Cîmpean, A. M., Ceaşu, R., Suci, C. & Raica, M. Correlations between vascular endothelial growth factor expression, microvascular density in tumor tissues and tm staging in breast cancer. *Arch. Biol. Sci.* **64**, 409–418 (2012).
35. Shibuya, M. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: Physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases. *J. Biochem.* **153**, 13–19 (2013).
36. Budiyati, C. S., Zussiva, A. & Bertha, K. L. Ekstraksi dan Analisis Zat Warna Biru (Anthosianin Anthosianin) dari Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) Sebagai Pewarna Alami. *J. Teknol. Kim. dan Ind.* **1**, 356–365 (2012).
37. Ikhwan, A., Hartati, S., Hasanah, U., Lestari, M. & Pasaribu, H. Pemanfaatan teh Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) sebagai minuman kesehatan dan meningkatkan UMKM di masa pandemi covid 19 kepada masyarakat di Desa Simonis Kecamatan Aek Natas. *J. Pendidik. Tambusai* **6**, 1–7 (2022).

38. Quazi, S. & Yogekar, T. A Review on Ethanopharmacological Importance of Clitoria Ternatea. *Sch. Acad. J. Biosci.* **08**, 63–67 (2020).
39. Gomez S. M. & A., K. Butterfly Pea (Clitoria ternatea): A Nutritive Multipurpose Forage Legume for the Tropics - An Overview. *Pakistan Journal of Nutrition* **2**, 374–379 (2003).
40. Thell, K. *et al.* Oral activity of a nature-derived cyclic peptide for the treatment of multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **113**, 3960–3965 (2016).
41. Kalangi, S. J. R. Histofisiologi Kulit. *J. Biomedik* **5**, 12–20 (2014).
42. Adhisa, S. & Megasari, D. S. Kajian Penerapan Model Pembelajaran Kooperatif Tipe True or False Pada Kompetensi Dasar Kelainan Dan Penyakit Kulit. *E-Jurnal* **09**, 82–90 (2020).
43. Handel, A. C., Miot, L. D. B. & Miot, H. A. Melasma: A clinical and epidemiological review. *An. Bras. Dermatol.* **89**, 771–782 (2014).
44. Asditya, A. & Sukanto, H. Studi Retrospektif: Profil Pasien Melasma (Profile of Melasma Patients: A Retrospective Study). *Berk. Ilmu Kesehat. Kulit dan Kelamin* **29**, 220–228 (2017).
45. Phansuk, K., Vachiramon, V., Jurairattanaporn, N., Chanprapaph, K. & Rattananukrom, T. Dermal Pathology in Melasma: An Update Review. *Clin. Cosmet. Dermatol.* **15**, 11–19 (2022).
46. Costa, M. C., Eljaiek, H. V., Abraham, L. S., Azulay-Abulafia, L. & Ardigo, M. In vivo reflectance confocal microscopy in a typical case of melasma. *An. Bras. Dermatol.* **87**, 782–784 (2012).
47. Hidayati, A. N., Pudjirahardjo, W. J. & Pohan, S. S. Pajanan Kumulatif Sinar UVA-UVB Matahari Memengaruhi Peningkatan Ekspresi Interleukin-10, Suatu Sitokin Imunosupresi pada Limfosit T Cutaneous Lymphocytes Antigen (CLA)+ Darah Tepi. *Media Dermato-Venereologica Indonesiana* **42**, 157–162 (2015).
48. Susilawati, I. D. A. Kajian Pustaka: Sumber Reactive Oxygen Species (ROS) Vaskular. *STOMATOGNATIC - J. Kedokt. Gigi* **18**, 1 (2021).
49. Kwon, K. R., Alam, M. B., Park, J. H., Kim, T. H. & Lee, S. H.

Attenuation of UVB-induced photo-aging by polyphenolic-rich *Spatholobus suberectus* stem extract via modulation of MAPK/AP-1/MMPs signaling in human keratinocytes. *Nutrients* **11**, (2019).

50. Lee, A. Y. Recent progress in melasma pathogenesis. *Pigment Cell Melanoma Res.* **28**, 648–660 (2015).
51. Swope, V. B. & Abdel-Malek, Z. A. MC1R: Front and center in the bright side of dark eumelanin and DNA repair. *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 1–16 (2018).
52. Zhou, J., Ling, J., Wang, Y., Shang, J. & Ping, F. Cross-talk between interferon-gamma and interleukin-18 in melanogenesis. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **163**, 133–143 (2016).
53. Liu, T., Zhang, L., Joo, D. & Sun, S. C. NF- $\kappa$ B signaling in inflammation. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2**, (2017).
54. Ferdian, J. & Wijayahadi, N. Pengaruh pemberian Ekstrak Rimpang Rumpuk Teki (*Cyperus Rotundus* L.) Terhadap Kuantitas Asi Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Betina. *J. Kedokt. Diponegoro* **7**, 655–666 (2018).
55. Kim, H. Y., Sah, S. K., Choi, S. S. & Kim, T. Y. Inhibitory effects of extracellular superoxide dismutase on ultraviolet B-induced melanogenesis in murine skin and melanocytes. *Life Sci.* **210**, 201–208 (2018).
56. Sa'dyah, N. A. C. *et al.* Suppression of transforming growth factor- $\beta$  by mesenchymal stem-cells accelerates liver regeneration in liver fibrosis animal model. *Universa Med.* **40**, 29–35 (2021).
57. She, J. M., Yuan, H. H., Zhang, J., Si, Z. N. & Lan, M. B. Protective effect of the *Rubus chingii* Hu. fruit extract on ultraviolet B-induced photoaging via suppression of mitogen-activated protein kinases (MAPKs) in vitro. *Arch. Biol. Sci.* **71**, 541–550 (2019).
58. Petruk, G., Giudice, R. Del, Rigano, M. M. & Monti, D. M. Antioxidants from plants protect against skin photoaging. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2018**, (2018).
59. Bujak, T. *et al.* Flower Extracts as Multifunctional Dyes in the Cosmetics Industry. *Molecules* **27**, (2022).
60. Roy, S., Sil, A. & Chakraborty, T. Potentiating apoptosis and modulation of



- p53, Bcl2, and Bax by a novel chrysin ruthenium complex for effective chemotherapeutic efficacy against breast cancer. *J. Cell. Physiol.* **234**, 4888–4909 (2019).
61. Andriani, D. & Murtisiwi, L. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang (*Clitoria ternatea L*) dari Daerah Sleman dengan Metode DPPH. *Pharmakon J. Farm. Indones.* **17**, 70–76 (2020).
  62. Bhadauria, M. Propolis prevents hepatorenal injury induced by chronic exposure to carbon tetrachloride. *Evidence-based Complement. Altern. Med.* **2012**, 1–12 (2012).
  63. Marpaung, A. M. Tinjauan manfaat Bunga Telang (*Clitoria ternatea L*) bagi kesehatan manusia. *J. Funct. Food Nutraceutical* **1**, 63–85 (2020).
  64. Denta Kusuma, A. Potensi Teh Bunga Telang (*Clitoria ternatea L*) sebagai Obat Pengencer Dahak Herbal Melalui Uji Mukositas. *Risenologi* **4**, 65–73 (2019).
  65. Syafuadi, R. Pengaruh Terapi Preventif dan Kuratif Kombinasi Curcumin dan Vitamin E dibandingkan Doxorubicin Terhadap Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) dan Gambaran Histopatologi Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) Model Kanker Mammae. *Thesis. Repos.* (2017).
  66. Bao, P., Kodra, A., Tomic-Canic, M. & Golinko, M. S. The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Wound Healing. *J Surg Res* **23**, 1–7 (2009).
  67. Srinivasa Balaji, K. & Shivaprakash, P. Angio Suppressive Effect of *Clitoria ternatea* Flower Extract is Mediated by HIF-1 $\alpha$  and Down Regulation of VEGF in Murine Carcinoma Model. *Med. Chem. (Los Angeles)*. **6**, 515–520 (2016).
  68. Johnson, K. E. & Wilgus, T. A. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in the Regulation of Cutaneous Wound Repair. *Adv. Wound Care* **3**, 647–661 (2014).
  69. Wulff, B. C. & Wilgus, T. A. Mast cell activity in the healing wound: More than meets the eye? *Brian. Exp Dermatol* **23**, 1–7 (2013).