

**PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK BUNGA TELANG
(*Clitoria ternatea L.*) TERHADAP KADAR INTERLEUKIN-10
(IL-10) DAN KADAR *GLUTATHIONE PEROKSIDASE* (GPx)
(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

Siti Asichah

MBK.22.20.010332

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2024**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK BUNGA TELANG
TELANG (*Clitoria ternatea L.*) TERHADAP KADAR
INTERLEUKIN-10 (IL-10) DAN KADAR *GLUTATHIONE*
*PEROKSIDASE (GPx)***

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

Disusun oleh

Siti Asichah

(MBK.22.20.010332)

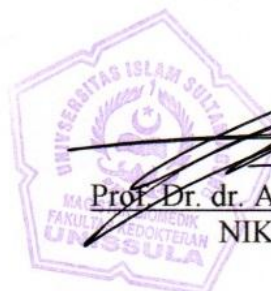
Menyetujui,


Pembimbing I,

Pembimbing II,


Prof. Dr. Ir. Titiék Sumarawati, M.Kes Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF
NIK. 220198045 NIK. 210199049

Mengetahui,
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas kedokteran Universitas Islam Sultan Agung




Prof. Dr. dr. 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.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat 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-10 (IL-10) DAN KADAR GLUTATHIONE PEROKSIDASE (GPx) (Studi Eksperimental *In Vivo* pada Tikus Wistar Jantan yang dipapar Sinar UV-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, S.H., Sp.F 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 berkenan 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. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., S.H selaku pembimbing II yang telah memberikan dorongan, semangat bimbingan masukan penyusun selama penyusunan tesis ini.
6. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo M.Kes., Dr. dr. Chodidjah, M.Kes., dan Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes., selaku penguji yang telah memberikan masukan, meluangkan waktu serta semangat dalam selama penyelesaian tesis ini.
7. Pada dosen pengajar dan rekan – rekan staf Magister Ilmu Biomedik yang tidak dapat disebutkan satu – satu yang telah memberikan doa dan dorongan kepada penyusun.
8. Kedua orang tua yang telah memberikan dorongan, serta doa sehingga proposal tesis ini dapat terselesaikan.
9. 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

(Siti Asichah)

ABSTRAK

Latar belakang: Paparan kronik sinar *Ultraviolet B* (UV-B) dikaitkan dengan hiperpigmentasi akibat respon stres oksidatif sehingga terbentuk kadar NO dan ROS. Kelebihan ROS memicu transduksi sinyal dan mengaktifkan faktor transkripsi NF- κ B sebuah mediator inflamasi. Bunga telang mengandung senyawa antosianin golongan flavonoid. Antosianin mampu memperlambat penuaan. Adapun ekstrak bunga telang memiliki kadar antioksidan tinggi yang mampu menghambat produksi ROS dan menurunkan kondisi inflamasi sehingga dapat menghambat MMP, mencegah apoptosis sel fibroblast serta menghambat penurunan kolagen. Peran bunga telang terhadap kadar gen IL-10 dan kadar gen GPx pada kulit melasma akibat paparan UVB penelitiannya.

Metode: Penelitian eksperimental dengan post test control group. Sampel menggunakan tikus galur wistar 24 ekor dibagi menjadi 4 kelompok yaitu Kelompok K2, K3 dan K4 masing-masing dipapar UVB dengan 302 nm dengan MED 160 mJ/cm², sedangkan pada kelompok K1 kelompok sehat. Pada K3 diberi gel bunga telang 5% dan K4 diberi gel 10% setiap hari selama 14 hari, sedangkan K2 menerima base gel. Pada hari ke 21 dilakukan, jaringan dianalisis kadar IL-10 dan GPx menggunakan ELISA.

Hasil: Kadar relative gen IL-10 pada kelompok perlakuan mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan dosis pemberian (K3=83,27 \pm 3,11, K4=90,66 \pm 4,00) dibandingkan dengan kontrol (K2=33,26 \pm 2,98, sedangkan K1=104,7 \pm 3,26). Kadar relative gen GPx pada kelompok perlakuan mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan dosis pemberian (K3=44,90 \pm 1,44, K4=54,09 \pm 1,00) dibandingkan dengan kelompok kontrol (K2=29,54 \pm 0,85, K1=62,43 \pm 0,85).

Kesimpulan: Pemberian gel bunga telang dapat meningkatkan kadar gen IL-10 dan meningkatkan kadar gen GPx pada jaringan kulit tikus model hiperpigmentasi yang diinduksi sinar UVB.

Kata Kunci: Gel, Bunga Telang, IL-10, GPx, Hiperpigmentasi.

ABSTRACT

Background: Chronic exposure to Ultraviolet B (UV-B) light is associated with hyperpigmentation due to an oxidative stress response resulting in the formation of NO and ROS levels. Excess ROS triggers signal transduction and activates the transcription factor NF- κ B, an inflammatory mediator. Butterfly pea flowers contain anthocyanin compounds from the flavonoid group. Anthocyanin can slow down aging. The butterfly pea flower extract has high antioxidant levels which are able to inhibit ROS production and reduce inflammatory conditions so that it can inhibit MMP, prevent fibroblast cell apoptosis and inhibit collagen degradation. The role of butterfly pea flowers on IL-10 gene levels and GPx gene levels in melasma skin due to UVB exposure is research.

Method: Experimental research with post test control group. Samples using 24 Wistar mice were divided into 4 groups, namely Groups K2, K3 and K4, each of which was exposed to UVB at 302 nm with a MED of 160 mJ/cm², while group K1 was a healthy group. K3 was given 5% butterfly pea flower gel and K4 was given 10% gel every day for 14 days, while K2 received base gel. On the 21st day, the tissue was analyzed for IL-10 and GPx levels using ELISA.

Results: The relative rate of the IL-10 gene in the treatment group increased along with increasing doses (K3=83.27 \pm 3.11, K4=90.66 \pm 4.00) compared to controls (K2=33.26 \pm 2.98, while K1=104.7 \pm 3.26). The relative rate of the GPx gene in the treatment group increased along with increasing dose (K3=44.90 \pm 1.44, K4=54.09 \pm 1.00) compared to the control group (K2=29.54 \pm 0.85, K1=62.43 \pm 0.85).

Conclusion: Administration of butterfly pea flower gel can increase the rate of the IL-10 gene and increase the rate of the GPx gene in the skin tissue of mouse models of UVB light-induced hyperpigmentation.

Keywords: Gel, Butterfly Flower, IL-10, GPx, Hyperpigmentation.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
<i>ABSTRACT</i>	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1. Tujuan Umum.....	5
1.3.2. Tujuan Khusus.....	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2. Manfaat Praktis.....	6
1.5. Originalitas Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1. <i>Interleukin-10</i> (IL-10).....	10
2.1.1. Definisi IL-10	10
2.1.2. Fungsi IL-10	11
2.2. <i>Glutathione peroxide</i> (GPx)	11
2.2.1. Definisi GPx	11
2.2.2. Jenis-jenis GPx	12
2.2.3. Mekanisme Kerja GPx.....	13

2.2.4.	Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kadar GPx	15
2.2.5.	Metode Pengukuran GPx	15
2.3.	Melasma.....	16
2.3.1.	Definisi Melasma.....	16
2.3.2.	Faktor-faktor Penyebab Melasma.....	17
2.3.3.	Histologi Kulit Melasma.....	20
2.4.	Bunga Telang (<i>Clitoria ternatea</i> L.).....	22
2.4.1.	Definisi.....	22
2.4.2.	Sistematika dan Taksonomi Bunga Telang	22
2.4.3.	Morfologi Tumbuhan.....	23
2.4.4.	Kandungan Fitokimia Bunga Telang.....	24
2.4.5.	Manfaat Bunga Telang pada Inflamasi.....	24
2.4.6.	Aktivitas Antioksidan Bunga Telang.....	25
2.5.	<i>Ultraviolet-B</i> (UVB).....	25
2.6.	Pengaruh Bunga Telang terhadap Kadar IL-10 dan Kadar GPx	26
2.6.1.	Pengaruh Bunga Telang terhadap Kadar IL-10	26
2.6.2.	Pengaruh Bunga Telang terhadap Kadar GPx	26
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....		28
3.1.	Kerangka Teori.....	28
3.2.	Kerangka Konsep	31
3.3.	Hipotesis	31
BAB IV METODE PENELITIAN		32
4.1.	Rancangan Penelitian	32
4.2.	Populasi Penelitian	33
4.2.1.	Teknik Pengambilan Sampel	33
4.2.2.	Kriteria Inklusi	33
4.2.3.	Kriteria Eksklusi	34
4.2.4.	Kriteria <i>Drop Out</i>	34
4.2.5.	Jumlah Sampel.....	34
4.3.	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	34
4.3.1.	Variabel Bebas.....	34

4.3.2. Variabel Terikat	35
4.4. Definisi Operasional	35
4.5. Alat dan Bahan Penelitian	35
4.5.1. Alat.....	36
4.5.2. Bahan	36
4.6. Cara Penelitian.....	36
4.6.1. Perolehan <i>Ethical Clearance</i>	36
4.6.2. Pembuatan Ekstrak Bunga Telang.....	36
4.6.3. Penetapan Dosis.....	37
4.6.4. Pembagian Kelompok.....	38
4.6.5. Prosedur Pemeriksaan <i>Glutathione Peroxide (GPx)</i>	38
4.7. Alur Penelitian.....	40
4.8. Tempat dan Waktu Penelitian.....	41
4.9. Analisis Data.....	41
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	42
5.1. Hasil Penelitian.....	43
5.1.1. Kadar IL-10.....	44
5.1.2. Kadar GPx.....	45
5.2. Pembahasan	47
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	51
6.1. Kesimpulan.....	51
6.2. Keterbatasan Penelitian	51
6.3. Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	58

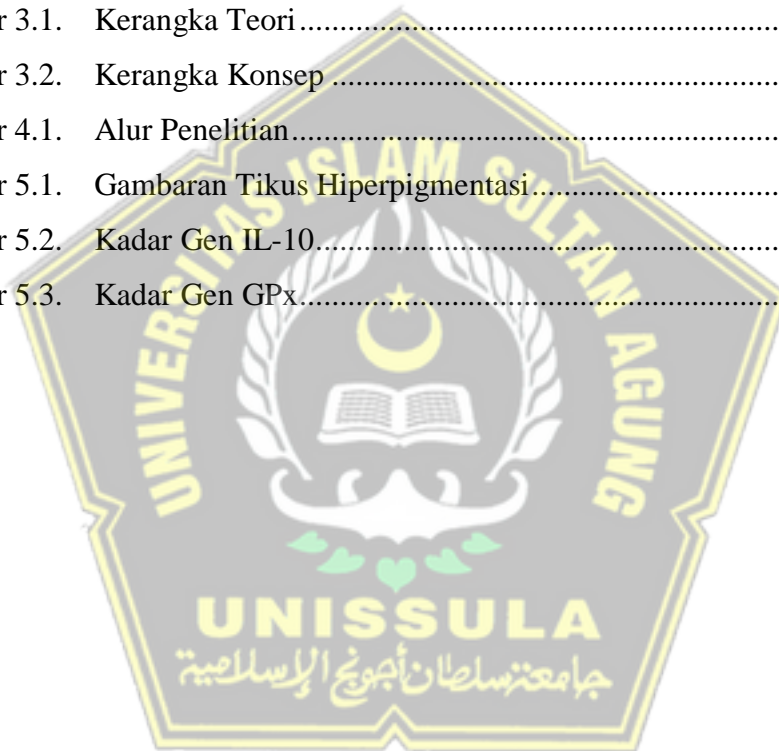
DAFTAR SINGKATAN

DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
PAMPs	: <i>Pathog En Associated Molecular Patterns</i>
PRRs	: <i>Pattern Recognition Receptors</i>
ROS	: <i>reactive oxygen species</i>
TLRs	: <i>Toll-like receptors</i>
TNF- α	: <i>tumor necrosis factor-α</i>
TNF- β	: <i>tumor necrosis factor-β</i>
UVB	: <i>UltraViolet B</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Struktur Kristal Glutathione peroxide (GPx)	13
Gambar 2.2.	Mekanisme Oksidasi <i>Glutathione Peroxidase</i>	14
Gambar 2.3.	Perubahan Patologis pada Dermis Melasma	17
Gambar 2.4.	Perubahan pada Dermis dengan Lesi Melasma (<i>Sumber: Phansuk et al</i>) ³³	21
Gambar 2.5.	Bunga telang (<i>Clitoria ternatea L.</i>)	22
Gambar 3.1.	Kerangka Teori	30
Gambar 3.2.	Kerangka Konsep	31
Gambar 4.1.	Alur Penelitian	40
Gambar 5.1.	Gambaran Tikus Hiperpigmentasi	40
Gambar 5.2.	Kadar Gen IL-10	45
Gambar 5.3.	Kadar Gen GPx	46



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian.....	7
Tabel 4.1. Definisi Operasional	35
Tabel 5.1. Data Hasil Penelitian Kadar Gen Il-10 dan Kadar Gen GPx	43
Tabel 5.2. Uji <i>Post-hoc</i> LSD kadar gen Il-10 dan kadar gen GPx antar kelompok penelitian.....	44



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	<i>Ethical Clearance</i>	58
Lampiran 2.	Surat Izin Penelitian	59
Lampiran 3.	Hasil Analisis Data	61
Lampiran 4.	Dokumentasi.....	67



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Paparan kronik sinar *Ultraviolet B* (UV-B) dikaitkan dengan hiperpigmentasi akibat respon stres oksidatif sehingga terbentuk kadar nitrit oksida (NO) dan *reactive oxygen species* (ROS).¹ Kelebihan ROS memicu transduksi sinyal dan mengaktifkan faktor transkripsi *nuclear factor kappa β* (NF-κβ) sebuah mediator inflamasi.² Respon inflamasi yang dimediasi oleh heterodimer subunit P50 dan p65 NF-κβ menginduksi pelepasan sitokin proinflamasi seperti interleukin-6 (IL-6), interleukin-1β (IL-1β), dan interleukin-10 (IL-10) yang menyebabkan inflamasi kulit.³ Selain itu ROS yang diinduksi UV dapat menyebabkan kerusakan DNA, peroksidasi lipid dan degradasi protein pada sel kulit, serta dapat mengurangi aktivitas enzim antioksidan di kulit, termasuk *glutathione peroksidase* (GPx).⁴ Apabila kadar glutathion dalam serum rendah menyebabkan penurunan mobilisasi Ca²⁺ dan kegagalan fosforilasi tirosin pada beberapa protein, termasuk pembentukan reseptor sel imun seperti CD3, sehingga regulasi fungsi sel imun tubuh terganggu. Glutathion disintesis oleh rangkaian gen yang menjadi glutathion (gen GCS). Sintesis GSH diekspresikan secara genetik oleh urutan gen yang membentuk protein enzim. Bila kadar gen berubah maka sintesis GSH tersebut terganggu, sehingga tidak terbentuk GSH baru. Akibat rendahnya GSH maka terjadi keparahan suatu penyakit.⁵ Penelitian terdahulu membuktikan bahwa Gel ekstrak *Clitoria ternatea L.* 5%

terbukti dapat menghambat peningkatan kadar MMP-1 pada kulit tikus Wistar yang terpapar sinar UV-B.⁶ Selain itu, interleukin-10 (IL10) merupakan sitokin anti inflamasi yang memiliki peran penting dalam mengatur respon imun tubuh terhadap stress oksidatif. Kadar gen IL-10 dapat dipengaruhi oleh berbagai factor eksternal, termasuk paparan UVB. Oleh karena itu perlu dikaji lebih lanjut manfaat Gel ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) dengan kandungan antosianin, quercetin, dan kaempferol diharapkan dapat menghambat kadar gen IL-10 dan meningkatkan kadar gen GPx pada tikus wistar jantan yang dipapar sinar UV-B.

Prevalensi melasma di dunia khususnya di Brazil jumlahnya mencapai 5,3%- 9,1%. Penelitian di India menunjukkan bahwa 48,8% penderita melasma memiliki faktor risiko paparan sinar UV dan sebanyak 58,1% penderita adalah orang-orang yang bekerja di luar ruangan sehingga memiliki intensitas terpapar sinar UV cukup tinggi.⁷ Penelitian retrospektif mendapatkan insiden melasma di RS dr.Soetomo Surabaya periode 2012-2014 sebanyak 5%. Sementara pada tahun 2016-2018 mendapatkan insiden melasma sebanyak 60 pasien atau 0,10% dari total 560 pasien baru di poliklinik kulit dan kelamin.⁸ Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa paparan UVB kronis menyebabkan stress oksidatif, sehingga mengaktivasi fosforilasi *mitogen-activated protein kinases* (MAPK), aktivasi jalur p38, JNK, ERK, dan p53, yang kemudian dapat memicu kadar *matrix*

metalloproteinases (MMPs) yang menyebabkan degradasi *extracellular matrix* (ECM).^{9,10}

Paparan sinar UV menyebabkan peningkatan proliferasi dan peningkatan aktivitas melanosit pada kulit, sehingga menyebabkan pigmentasi epidermal terutama pada area yang terpapar matahari. Paparan berulang dari sinar matahari dengan dosis *suberythemal* menstimulasi proses melanogenesis dengan peningkatan jumlah melanin. Penumpukan jumlah melanin di epidermis dan dermis dapat dibuktikan pada temuan mikroskopik kulit pasien melasma. Sinar ultraviolet yang mempengaruhi proses melanogenesis dimediasi oleh efek langsung UV pada DNA dan membran melanosit. Radiasi sinar UV akan mengeluarkan *diacyl glycerol* (DAG) dan asam arakhidonat dari membran melanosit. *Diacyl glycerol* (DAG) akan mengaktifasi protein kinase C (PKC) yang merupakan sinyal penting jalur transduksi dalam regulasi melanogenesis. Namun kerusakan DNA atau jalur *diacyl glycerol* (DAG)/ asam arakhidonat belum diketahui secara pasti berhubungan dengan melasma.^{11,12}

Tumbuhan bunga telang memiliki kandungan nutrisi yang dikenal sebagai tumbuhan obat, seluruh bagiannya termasuk akar, biji, dan daun digunakan sebagai obat dan diakui memiliki efek dalam menurunkan inflamasi.^{13,14} Bagian petal bunga telang merupakan sumber antosianin dan berbagai macam jenis flavonoid yang memiliki efek antioksidan.¹⁵ Penelitian terbaru menyatakan bahwa pemberian ekstrak bunga telang (*Clitorea ternatea L*) memiliki kadar antioksidan tinggi yang mampu

menghambat produksi ROS dan menurunkan kondisi inflamasi sehingga dapat menghambat MMP, mencegah apoptosis sel fibroblast serta menghambat penurunan kolagen. Penelitian lainnya melaporkan bahwa antosianin merupakan antioksidan yang kuat untuk menurunkan ROS dan dapat diberikan secara topical maupun oral. Penelitian lainnya juga 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.¹⁶ Namun demikian belum ada penelitian yang mengkaji peran bunga telang terhadap kadar gen IL-10 dan kadar gen GPx pada kulit melasma akibat paparan UVB, dalam penelitian ini tikus akan diperiksa makroskopis dan mikroskopis untuk mengetahui kadar gen. Berlatar belakang masalah diatas, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efektifitas pemberian Gel Ekstrak Bunga Telang terhadap kadar gen IL-10 dan kadar gen GPx pada tikus galur wistar yang dipapar UVB.

1.2. Perumusan Masalah

Adakah pengaruh pemberian Gel Ekstrak Bunga Telang terhadap kadar IL-10 dan kadar GPx pada tikus galur wistar yang dipapar UVB?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Secara umum penelitian ini untuk membuktikan pengaruh Gel Ekstrak Bunga Telang terhadap kadar IL-10 dan kadar GPx pada tikus galur wistar yang dipapar UVB.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Untuk membuktikan pengaruh pemberian Gel Ekstrak Bunga Telang secara topikal 5% dan topikal 10% terhadap kadar IL10 pada tikus galur wistar yang dipapar UVB dibandingkan kelompok kontrol.
2. Untuk membuktikan pengaruh pemberian Gel Ekstrak Bunga Telang secara topikal 5% dan topikal 10% terhadap kadar GPx pada tikus galur wistar yang dipapar UVB dibandingkan kelompok kontrol.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Secara teoritis manfaat yang diberikan dari penelitian ini adalah menyajikan ilmu pengetahuan kepada masyarakat terkait peran pemberian gel ekstrak Bunga Telang terhadap kadar IL-10 dan kadar GPx.

1.4.2. Manfaat Praktis

Secara praktis manfaat dari penelitian ini yaitu dapat menjadi data dasar bagi penelitian terapan lanjutan yang bermuara pada produksi untuk terapi melasma akibat paparan UVB dimana salah satu karakteristiknya yaitu produksi melanin berlebih.

1.5. Originalitas Penelitian

Originalitas penelitian menyajikan perbedaan dan persamaan bidang kajian yang diteliti antara peneliti dengan peneliti-peneliti sebelumnya, untuk menghindari adanya pengulangan kajian terhadap hal-hal yang sama dapat dilihat dalam tabel 1.1.



Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

No	Peneliti, tahun	Judul	Metode	Hasil
1.	Rahayu S <i>et al</i> , 2021. ¹⁷	Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (Clitoria Ternatea L.) Dari Kabupaten Lombok Utara Dan Wonosobo Menggunakan Metode Frap	metode FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>)	Aktivitas antioksidan dari kabupaten Lombok Utara dan Wonosobo masing-masing nilai IC50 sebesar 4,19 ppm dan 3,08 ppm.
2.	Zakaria <i>et al</i> , 2018. ¹⁸	In vitro protective effects of an aqueous extract of <i>Clitoria ternatea</i> L. flower against hydrogen peroxide-induced cytotoxicity and UVinduced mtDNA damage in human keratinocytes	Studi Klinis	Hasil ini menunjukkan efek perlindungan dari ekstrak bunga C. ternatea melawan penuaan kulit.
3	Dziok <i>et al</i> , 2021. ¹⁹	Cosmetic and Dermatological Properties of Selected Ayurvedic Plant Extracts	In Vitro, Eksperimental	hasil ini menunjukkan bahwa bunga telang memiliki potensi antiinflamasi dan antiaging karena mampu menghambat enzim kolagenase.
4	Jayanti <i>et al</i> . 2021. ²⁰	The Formulation and Physical Evaluation Tests of Ethanol in Telang Flower (Clitoria ternatea L.) Extract Losio Form as Antioxidant	In Vitro, Eksperimental	Formula lotion ekstrak bunga telang mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat dan berpotensi melindungi kulit dari radikal bebas
5	Suherlan <i>et al</i> . 2021. ²¹	Uji In-Silico Aktivitas Melanogenesis Senyawa Ternatin Bunga Kembang Telang (Clitoria ternatea) terhadap Reseptor Tirosinase	In Vitro, Eksperimental	Ternatin A1 baik sebagai Kandidat antimelanogenesis, sementara tidak disarankan menjadi kandidat antimelanogenesis.

Berdasarkan tabel 1.1 penelitian terdahulu menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan bunga Telang dari kabupaten Lombok Utara dan Wonosobo masing-masing nilai IC50 sebesar 4,19 ppm dan 3,08 ppm.¹⁷ Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian ini dimana ekstrak bunga telang akan di treatment pada tikus yang dipapar sinar UVB dan dianalisis kadar IL-10 dan kadar GPx. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa Hasil ini menunjukkan efek perlindungan dari ekstrak bunga *C. Ternatea* yang mengandung antosianin poliasilasi dan glikosida flavonol sebagai unsur utama penggunaan tradisional dan kosmetik bunga *C. ternatea* melawan penuaan kulit.¹⁸ Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian ini dimana ekstrak bunga telang akan di treatment pada tikus yang dipapar sinar UVB dan dianalisis kadar IL-10 dan kadar GPx. Hasil penelitian terdahulu selanjutnya membuktikan bahwa bunga telang memiliki potensi antiinflamasi dan antiaging karena mampu menghambat enzim kolagenase¹⁹. Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian ini dimana ekstrak bunga telang akan di treatment pada tikus yang dipapar sinar UVB dan dianalisis kadar IL-10 dan kadar GPx. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa formula lotion ekstrak bunga telang mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat dan berpotensi melindungi kulit dari radikal bebas.²⁰ Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian ini dimana ekstrak bunga telang akan di treatment pada tikus yang dipapar sinar UVB dan dianalisis kadar IL-10 dan kadar GPx. Penelitian terdahulu juga melaporkan bahwa ternatin A1 kandungan bunga telang baik sebagai kandidat antimelanogenesis,

sementara ternatin D1, ternatin B1, dan ternatin C1 tidak disarankan menjadi kandidat antimelanogenesis.²¹ Penelitian tersebut juga berbeda dengan penelitian ini ini dimana ekstrak bunga telang akan di treatment pada tikus yang dipapar sinar UVB dan dianalisis kadar IL-10 dan kadar GPx.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Interleukin-10* (IL-10)

2.1.1. Definisi IL-10

IL-10 merupakan sitokin anti-inflamasi dalam sistem imun. IL10 berfungsi sebagai inhibitor yang kuat dalam proses produksi sitokin oleh Th1 termasuk IL-2 dan IFN γ . Fungsi utamanya adalah mengurangi inflamasi, selain mengendalikan perkembangan dan diferensiasi sel B, sel NK, sel Th, sel CD8, mastosit, granulosit, sel dendrit keratinosit dan sel endotelia. IL-10 merupakan protein yang berfungsi sebagai mediator peptida yang dihasilkan oleh sel suatu reaksi imunologik, berfungsi sebagai pengkodean/signal intraseluler antar sel dalam pengaturan respon inflamasi lokal maupun sistemik.²²

Pada tingkat seluler, IL-10 berperan sebagai agen pengatur *posttranscriptional* untuk menekan *messenger* RNA (mRNA) untuk menstabilkan protein HuR (*Human antigen R*). Selain itu IL-10 dapat menghambat jalur pensinyalan apoptosis, melalui jalur p38 *MitogenActivated Protein Kinase* (MAPK), melalui *Signal Transducer and Activator of Transcription 3* (STAT3), sehingga menghambat kematian jaringan dan disfungsi organ setelah cedera.²³

2.1.2. Fungsi IL-10

IL-10 berfungsi sebagai anti-inflamasi dengan cara mencegah produksi beberapa jenis sitokin pro-inflamasi dan atau cemokyn, meregulasi ekspresi *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas dua seperti makrofag dan sel dendritik dalam meningkatkan produksi sel T, sehingga bersifat immunosupresan dan melindungi cedera jaringan akibat respon imun yang berlebihan.²⁴

2.2. *Glutathione peroxide* (GPx)

2.2.1. Definisi GPx

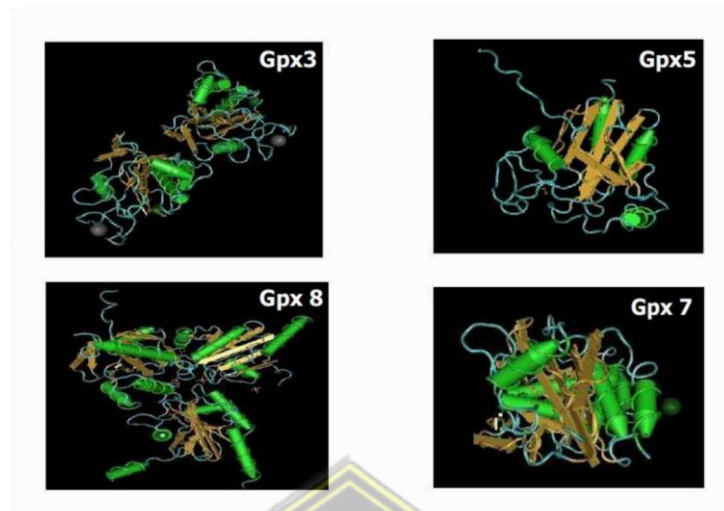
Glutathione peroxide (GPx) merupakan senyawa yang mengandung gugus *sulphidril* (-SH). Senyawa yang mengandung *sulphidril* dibagi menjadi dua kelompok yaitu senyawa gugus -SH protein dan kelompok gugus -SH nonprotein. *Glutathione* merupakan salah satu dari senyawa gugus -SH nonprotein. *Glutathione peroxide* disintesis oleh enzim γ -*glutamyl-sisteinsintetase* dan *glutathion sintetase* yang terdapat di sitoplasma. Sel GPx berperan dalam sintesis prekursor DNA, reduksi ikatan disulfida protein, transpor asam amino, koenzim untuk beberapa enzim dan melindungi sel terhadap radikal bebas dan komponen toksik lain, baik yang berasal dari dalam atau dari luar tubuh. GPx dapat bertindak sebagai substrat untuk *glutathione peroxide* ataupun dapat secara langsung sebagai radikal bebas. Gugus *sulphidril* bebas dalam struktur molekul *glutathione* mampu melindungi sel terhadap

beban oksidatif.²⁵ Enzim glutathione peroksidase (GPx) dapat mengkatalisis proses reduksi hidroperoksida lemak menjadi alkohol dan hidrogen peroksida menjadi air. Pada saat mengkatalisis proses tersebut ikatan disulfida dari GSH akan berikatan membentuk Glutathione teroksidasi (GSSG), dan enzim glutathione reduktase dapat mendaur ulang GSSG menjadi GSH kembali dengan cara mengoksidasi NADPH. Ketika sel terpapar oleh stres oksidasi maka akan terjadi penumpukan GSSG dan rasio GSH/GSSG akan menurun.²⁶

2.2.2. Jenis-jenis GPx

Glutathione peroxidase (GPx) saat ini telah dikenal 8 macam, mulai dari GPx 1 hingga GPx 8. Sebagian besar merupakan *selenoprotein* (GPx 1, GPx 2, GPx 3, GPx 4, dan GPx 6), sedangkan pada GPx 5, GPx 7 dan GPx 8, tempat aktif residu *selenocysteine* diganti dengan *cysteine*. Fungsi dari masing - masing GPx ini belum sepenuhnya diketahui.²⁷ Gambar Struktur kristal GPx disajikan pada

Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Struktur Kristal Glutathione peroxidase (GPx)
(Sumber : NCBI yang dikutip oleh Dunford)²⁸

2.2.3. Mekanisme Kerja GPx

Glutathione peroxidase (GPx) adalah enzim yang berperan aktif dalam menghilangkan H_2O_2 dalam tubuh dan mempergunakannya untuk merubah *glutathione* (GSH) menjadi *glutathione* teroksidasi (GSSG) dengan reaksi sebagai berikut²⁸:



Selain mengkatalis H_2O_2 , GPx juga dapat memecah senyawa peroksida lainnya, yaitu dengan menggunakan GSH sebagai donor hidrogen. Hasil reduksi semua senyawa peroksida tersebut adalah alkohol.



Aktivitas GPx memerlukan *glutathione* sebagai kosubstrat dan enzim *glutathione reduktase* untuk mengubah *glutathione* teroksidasi (GSSG) menjadi bentuk tereduksi (GSH). Logam Se dalam GPx berfungsi sebagai katalitik pada bagian aktifnya, kemudian

memusnahkan H_2O_2 . Enzim tersebut juga dapat menyingkirkan peroksidasi lipid dari membran sel. Enzim *glutathione reduktase* ini juga mendukung aktivitas enzim SOD bersama-sama dengan enzim katalase dan menjaga konsentrasi oksigen akhir agar stabil dan tidak berubah menjadi pro-oksidan. *Glutathione* sangat penting sekali melindungi selaput-selaput sel. Senyawa ini merupakan tripeptida yang terdiri dari asam amino *glisin*, asam glutamat, dan *sistein*.²⁸



Gambar 2.2. Mekanisme Oksidasi *Glutathione Peroxidase* (Sumber : NCBI yang dikutip oleh Dunford)²⁸

Mekanisme pertahanan terhadap senyawa oksigen reaktif dilakukan oleh sistem enzim dan sistem non enzim. Mekanisme pertahanan enzimatik terhadap senyawa oksigen reaktif bergantung pada 3 sistem, yaitu *glutathione peroxide*, enzim *superoxida dismutase*, dan katalase. Sistem *glutathione redox cycle* merupakan mekanisme pertahanan yang utama terhadap senyawa oksigen reaktif.²⁸

2.2.4. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kadar GPx

1. Usia

Stres oksidatif dipengaruhi oleh usia penderita (>50 tahun).

Usia yang semakin tua akan mengalami kerusakan sel sehingga meningkatkan kadar radikal bebas. Radikal bebas sangat reaktif menekan status antioksidan dan sistem imun sehingga terjadi penurunan aktivitas SOD, GPx, dan katalase pada lansia.²⁹

2. Obesitas

Obesitas menyebabkan peningkatan pengiriman glukosa ke jaringan adiposa yang semakin meluas dapat menimbulkan hipoksia. Hipoksia kronik dapat meningkatkan stres oksidatif tanpa mengompensasi antioksidan melalui jalur *xantin oksidase* sehingga menekan kerja GPx.³⁰

3. Aktivitas Fisik

Kadar GPx lebih tinggi pada saat istirahat dan aktivitas teratur daripada aktivitas berat. Latihan aerobik dan anaerobik berlebihan dapat menyebabkan kontraktilitas otot terganggu sehingga menimbulkan stres oksidatif dan menghasilkan ROS yang dapat merusak jaringan.³¹

2.2.5. Metode Pengukuran GPx

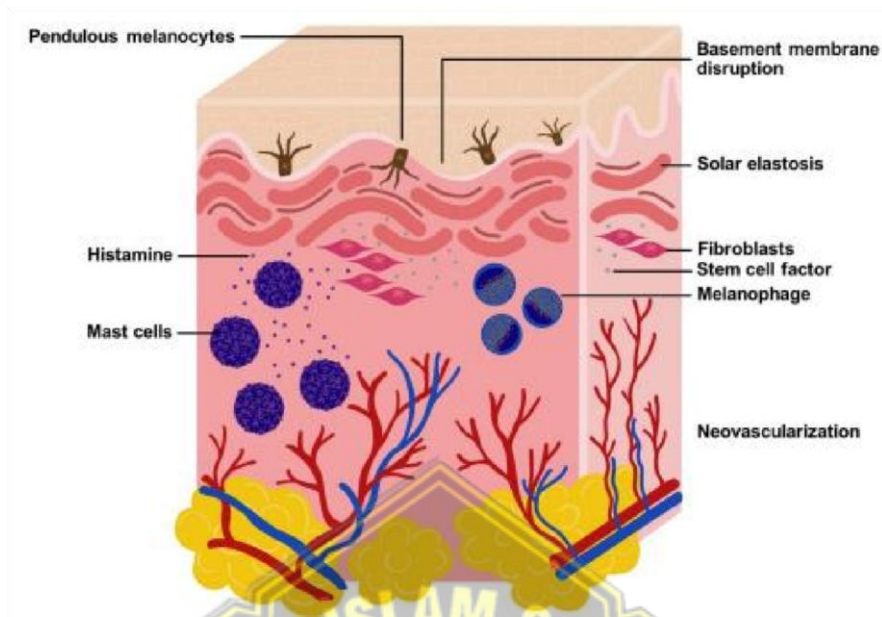
Beberapa metode pengukuran kapasitas antioksidan secara *in vitro* yang digunakan dewasa ini adalah *beta karoten bleaching*, *1,1Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH Radical Scavenging) method*,

*Thiobarbituric Acid-Reactive-Substances (TBARS) assay, enzyme linked immune sorbent assay (ELISA), Rancimat assay, Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) assay, Total Radical Trapping Antioxidant Parameter (TRAP) dan Ferric Reducing/Antioxidant Power (FRAP) assay, Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) method, Peroxyl Radical Scavenging Capacity (PSC) dan Total Oxyradical Scavenging Capacity (TOCS) method dan Folin-Ciocalteu Total Phenolic Assay dan lain-lain.*³²

2.3. Melasma

2.3.1. Definisi Melasma

Melasma sering terjadi pada wanita dewasa di usia subur, namun onset juga dapat terjadi setelah menopause. Usia onset antara 30-55 tahun dan pada pria hanya terjadi pada 10% kasus. Melasma adalah kelainan hipermelanosis kronik, simetris, dan didapat pada kulit, yang ditandai dengan bercak kecoklatan dengan tepi iregular terutama pada daerah yang sering terpajan sinar matahari, dan biasanya dijumpai pada wanita usia reproduksi. Sering mengenai tipe kulit III dan IV Fitzpatrick.



Gambar 2.3. Perubahan Patologis pada Dermis Melasma
(Sumber: Phansuk et al)³³

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 kadangkadang mengenai leher. Letaknya yang seringkali pada wajah menyebabkan pasien kurang percaya diri sehingga berpengaruh terhadap kualitas hidup pasien.⁸

2.3.2. Faktor-faktor Penyebab Melasma

1. Paparan Sinar UV

Spektrum sinar matahari dapat merusak gugus sulfhidril pada epidermis yang menghambat enzim tirosinase dengan cara mengikat ion Cu dari enzim tersebut sehingga memicu terjadinya proses melanogenesis. Perlindungan alami akan mengaktifkan peningkatan melanosit dan perubahan fungsi

melanosit sehingga menstimulasi melamin yang berlebihan dan timbulnya *tanning* cepat dan lambat sebagai respon radiasi UV. Mekanisme utama yang berperan dalam proses protein kinase A (PKA), selanjutnya akan menstimulasi c-AMP response-element binding 9 protein (CREB) yaitu faktor transkripsi dan meningkatkan ekspresi dan meningkatkan sintesis melanin. Terutama pada daerah wajah karena jumlah melanosit epidermal lebih banyak dari bagian tubuh yang lain, serta daerah wajah sering terpapar cahaya matahari.

2. Obat

Misalnya difenil hidantoin, mesantoin, klorpromasin, sitostatik, dan minosiklin dapat menyebabkan timbulnya melasma. Penggunaan obat-obatan ini ditimbun di lapisan dermis bagian atas dan secara kumulatif yang dapat merangsang melanogenesis. Sebagai akibat akumulasi melamin yang diikuti peradangan pada kutaneus nonspesifik dan sering diperberat karena paparan sinar UV.

3. Kosmetika

Pemakaian kosmetika yang mengandung parfum, zat pewarna, atau bahan-bahan tertentu dapat menyebabkan fotosensitivitas yang mengakibatkan timbulnya hiperpigmentasi pada wajah, jika terpajan sinar matahari.

4. Genetik

Dilaporkan adanya kasus keluarga sekitar 20-70%. Gen yang berperan dalam pigmentasi kulit *Gen Melanocortin 1 Receptor (MC1R)*. Dua jenis melamin yaitu eumelanin dan feomelamin yang akan diregulasi oleh gen MC1R yang merupakan mediator sinyal transduksi alpha melanocyte stimulating hormone yang akan mengaktivasi cAMP yang berperan dalam pengaktivasi tirosinase dalam mekanisme sintesis melamin.

5. Hormon

Peranan hormone mekanismenya belum diketahui dengan pasti, namun diyakini hormone yang berperan estrogen, progesteron dan Melanin Stimulating Hormone. Semua hormon tersebut meningkatkan produksi tirosinase dan ukuran melanosit yang meningkatkan transkripsi gen penyusun enzim DOPA-chrome tautomerase (DCT) yang berperan dalam timbulnya melasma. Melanosit pada kulit memiliki nukleus dan reseptor estrogen sitolitik yang jika aktif akan membuat hipertif pada melanosit. Di lesi melasma terdapat Melanin Stimulating Hormone pada keratinosit yang menstimulasi aktivitas tirosinase dan terjadinya sintesis melanin yang berperan dalam proses melanogenesis.

6. Jenis Kelamin

Melasma terutama dijumpai pada perempuan, meskipun dapat ditemui pada laki-laki (10%). Di Indonesia perbandingan kasus perempuan dan laki-laki adalah 24:1. Terutama tampak pada perempuan usia subur dengan riwayat langsung terkena paparan sinar matahari. Melasma dapat mengenai ibu hamil, perempuan yang menggunakan pil kontrasepsi, pemakai kosmetik, pemakai obat, dan lain-lain. Melasma lebih banyak ditemui pada perempuan hal ini berkaitan dengan hormon, misalnya estrogen, progesteron, dan MSH (Melanin Stimulating Hormone) berperan pada terjadinya melasma. Pada ibu hamil, melasma biasanya meluas pada trimester ke-3. Pada pemakai pil kontrasepsi, melasma tampak dalam 1 bulan sampai 2 tahun setelah dimulai pemakaian pil tersebut.

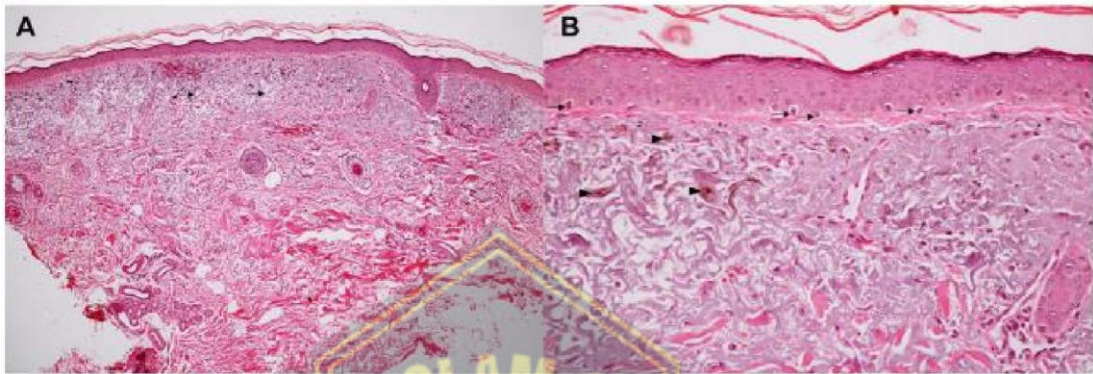
7. Usia

Insiden melasma terbanyak pada usia 30-44 tahun. Hal ini mungkin dipengaruhi oleh perubahan pada keseimbangan estrogen, paparan sinar matahari dan sintesis melanin yang berlebihan.

2.3.3. Histologi Kulit Melasma

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).³⁴



Gambar 2.4. Perubahan pada Dermis dengan Lesi Melasma (Sumber: Phansuk et al)³³

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. Subkelompoknya dibagi menjadi empat yaitu³⁵:

1. Kelompok melanofag kecil (10–15 μm)
2. Kelompok melanofag besar (15–20 μm)
3. Melanofag Dendritik
4. Melanofag Individu

2.4. Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

2.4.1. Definisi

Bunga Telang atau biasa disebut Butterfly Pea Flower adalah tumbuhan perenial yang termasuk dalam famili Fabaceae dan berasal dari Amerika Selatan. Bunga telang telah menyebar ke daerah tropik sejak abad 19 termasuk Indonesia. Tumbuhan ini tidak memerlukan intensitas cahaya yang tinggi untuk tumbuh sehingga mampu tumbuh dengan lebat di bawah naungan seperti di perkebunan kelapa dan karet.³⁶

2.4.2. Sistematika dan Taksonomi Bunga Telang

Menurut Cronquist (1981) Bunga Telang secara taksonomi diklasifikasikan sebagai berikut :



Gambar 2.5. Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.)
(Sumber: Zahara)³⁷

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>

2.4.3. Morfologi Tumbuhan

Secara morfologis tanaman bunga telang tidak memiliki perbedaan yang mencolok pada akar, batang, dan bunga. Bentuk akar dan batang di dataran rendah dan dataran tinggi memiliki persamaan, yaitu akar tunggang berwarna putih kekuningan, batang berbentuk bulat dan berkayu, batang berwarna hijau pada saat masih muda dan coklat ketika tua. Morfologi bunga di dataran rendah dan dataran tinggi sama-sama memiliki 3 buah mahkota berwarna biru tua dengan 10 kepala sari dan satu putik. Perbedaan morfologi bunga telang yang dapat diamati yaitu bentuk daun, ukuran daun, polong, dan biji. Bentuk daun bunga telang di dataran rendah yaitu bulat telur dengan ujung dan pangkal daun membulat, sementara di dataran tinggi bentuk daun bulat telur dengan ujung dan pangkal meruncing. Ukuran daun di dataran rendah lebih pendek dan lebih

lebar dibandingkan dengan dataran tinggi yang lebih panjang dan lebih sempit.³⁸

2.4.4. Kandungan Fitokimia Bunga Telang

Hasil analisis profil kandungan senyawa biologis yang dilakukan penelitian terdahulu mengatakan bahwa Bunga Telang atau *C. ternatea* mengandung *tanin, flobatanin, karbohidrat, saponin, fenol flavonoid, triterpenoid, protein, alkaloid, flavanol glukosida, antrakuinon, stigmasit 4-ena-3,6 dion, minyak volatil, dan flavonoid*. Flavonoid yang banyak terdapat dalam *C. ternatea* antara lain terdiri dari *anthocyanin, apigenin, kaemferol flavonol, flaveur, flavanon, dan isoflavon*, yang telah dilaporkan memiliki aktivitas anti-inflamasi.³⁹

2.4.5. Manfaat Bunga Telang pada Inflamasi

Bunga telang dapat menekan inflamasi yaitu dengan cara menghambat jalur pensinyalan AP-1 dan Nrf-2 melalui turunan flavonoid pada bunga telang yang mampu menekan produksi TNF- α . Penelitian terdahulu melaporkan bahwa apigenin pada bunga telang dapat menekan transkripsi gen MCP-1 yang merupakan salah satu mediator inflamasi. Kaemferol dan quercetin dilaporkan juga mampu menekan produksi berbagai mediator pro-inflamasi dari sel-sel seperti makrofag, endotel, epitel, atau sel hati dengan menghambat jalur TLR4. Turunan kaempferol lainnya jugaterbukti mempunyai

khasiat sebagai penghambat aktivitas enzim COX-2 yang bertugas sebagai pelepas mediator pro-inflamasi seperti PGE2 dan PGD2.⁴⁰

2.4.6. Aktivitas Antioksidan Bunga Telang

Umumnya, kadar total fenolik dan total flavonoid berkorelasi positif dengan aktivitas antioksidan. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Telang dalam Menghambat Peroksidasi Lipid bagian daun juga memiliki kadar total fenolik 35,47% dan flavonoid 0,88%, bagian bunga yang justru menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi. Perbedaan ini disebabkan adanya kemungkinan bahwa aktivitas antioksidan dapat berasal dari senyawa selain flavonoid. Berdasarkan hasil tersebut, disimpulkan bahwa ekstrak air bagian bunga, daun, dan akar memiliki potensi sebagai sumber antioksidan, terutama bagian bunga.⁴¹

2.5. Ultraviolet-B (UVB)

Sinar UV terdiri atas UVA (UVA I 340-400nm; UVA II 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.⁴²

2.6. Pengaruh Bunga Telang terhadap Kadar IL-10 dan Kadar GPx

2.6.1. Pengaruh Bunga Telang terhadap Kadar IL-10

IL-10 yang diproduksi keratinosit meningkat setelah terjadi aktivasi oleh radiasi UV, yang merupakan stimulator terbaik terhadap keratinosit. IL-10 yang dihasilkan oleh keratinosit akibat induksi UV menyebabkan immunosupresi lokal dan sistemik. Bahkan telah dibuktikan bahwa kadar IL-10 yang diproduksi keratinosit akibat radiasi UV masuk ke dalam sirkulasi darah. IL-10 juga menghambat beberapa jenis respons imun dan inflamasi, dengan dibuktikan bahwa IL-10 pada mice memicu respons hipersensitivitas kontak iritan dan alergi.⁴³ Penelitian terdahulu mengatakan bahwa manfaat ekstrak bunga telang sebagai antioksidan, antidiabetes, anti-obesitas, antiinflamasi, antimikroorganisme, antikanker, hepatoprotektif, dan beberapa manfaat fungsional lainnya.⁴⁴

2.6.2. Pengaruh Bunga Telang terhadap Kadar GPx

Enzim GPx diketahui memiliki kemampuan dalam mendegradasi ROS menjadi senyawa non radikal bagi tubuh sehingga tidak menyebabkan induksi inflamasi dan kerusakan oksidatif.⁴⁵ Senyawa flavonoid bunga telang seperti antosianin, quercetin, dan kaempferol dapat menghambat kadar ROS melalui peningkatan produk enzim antioksidan salah satunya GPx.⁴⁶ Penelitian terdahulupun mengatakan bahwa Bunga Telang memiliki

kemampuan antioksidan dengan meningkatkan enzim-enzim antioksidan, termasuk GPx.⁴⁷



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

Melasma berkaitan erat dengan jenis kelamin, faktor genetik, perubahan hormonal etika hamil, radiasi sinar UV dan penggunaan bahan kimia dalam kosmetik. Meskipun secara etiologi belum diketahui, tetapi paparan radiasi sinar UV dianggap sebagai pemicu utama dalam patogenesis melasma. Secara klasifikasi terdapat tiga jenis sinar UV yaitu UV-A, UV-B, dan UV-C yang memiliki panjang foton berbeda-beda.⁷ Studi sebelumnya menunjukkan bahwa radiasi UV pun dapat meningkatkan pembentukan hiperpigmentasi pada kulit dan meningkatkan *reactive oxygen species* (ROS).⁴⁸ Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa flavonoid dalam bunga telang dapat menghambat ROS dengan meningkatkan produksi enzim endogen yaitu GPx.⁴⁹

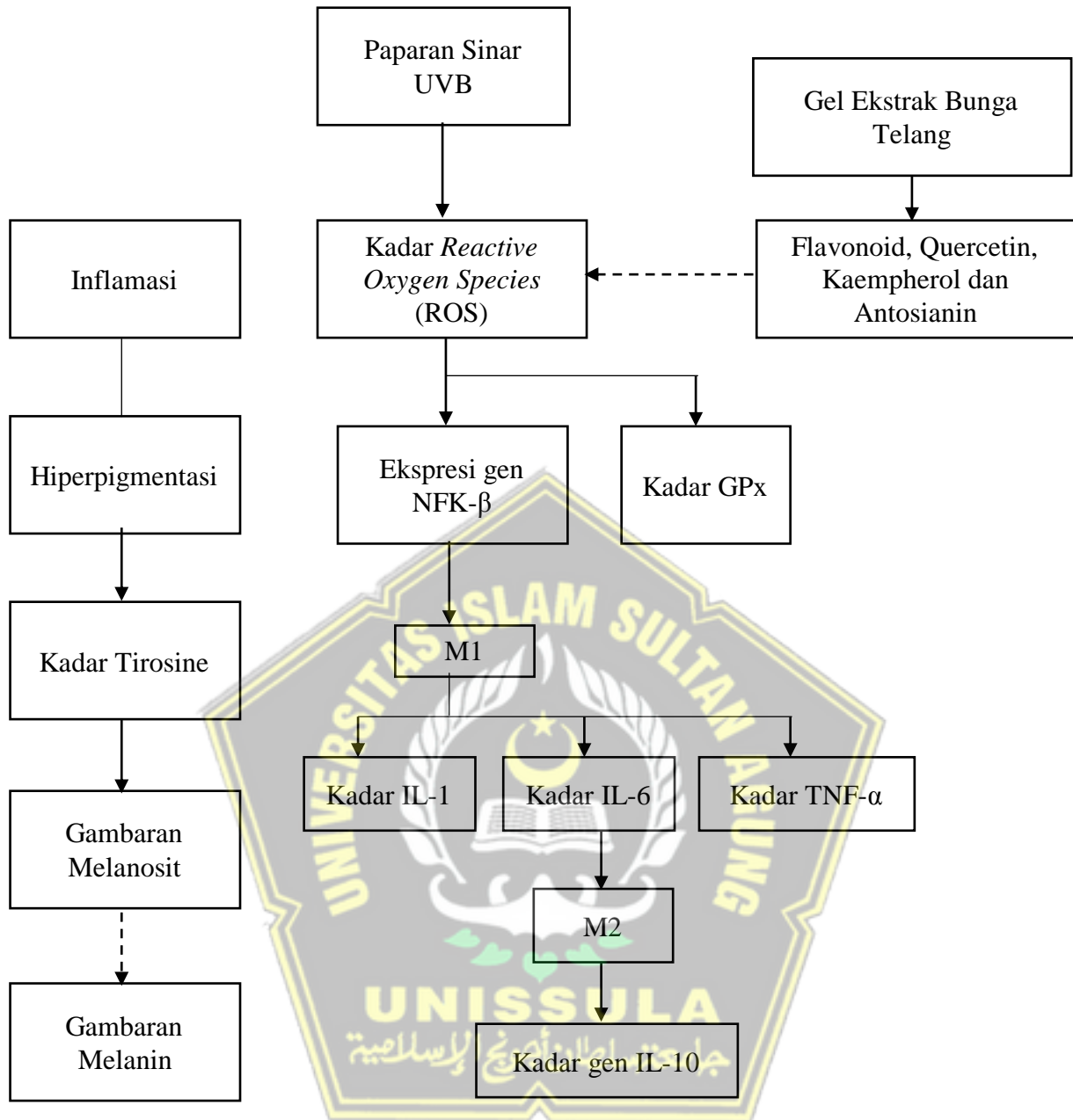
Paparan sinar UVB juga akan menyebabkan hiperpigmentasi, yang mana dapat memproduksi melanosit sehingga terjadi peningkatan melanin.

Menurut penelitian lampau menyatakan bahwa melanosit dapat mensekresi IL-10, sebagai mediator inflamasi.⁵⁰ Bunga Telang atau *C. Ternatea* mengandung tanin, flobatanin, karbohidrat, saponin, fenol flavonoid, triterpenoid, protein, alkaloid, flavanol glukosida, antrakuinon, stigmasit 4ena-3,6 dion, minyak volatil, dan flavonoid. Flavonoid yang banyak terdapat dalam *C. Ternatea* antara lain terdiri dari anthocyanin, apigenin, kaemferol flavanol, flaveur, flavanon, dan isoflavon, yang telah dilaporkan

memiliki aktivitas anti-inflamasi serta sebagai *depigment agen* sebagai penghambatan ekspresi gen enzim tirosinase pada proses transkripsi *messenger ribonucleic acid* (mRNA).³⁹

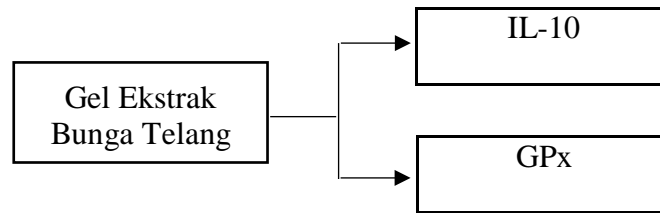
Kandungan Bunga Telang terdiri dari flavonoid, kaemferol, flavonol, antosianin, dan siklotida menunjukkan sifat immunomodulator, antioksidan, antirematik, antilipidemik, antidiabetik, antipiretik, analgesik, antiinflamasi, antiasma, nootropik, dan diuretik. Kandungan tersebut menghambat NF κ - β dan terjadi polarisasi M1 menjadi M2, dengan hasil yaitu VEGF, IL-10, dan TGF- β .





Gambar 3.1. Kerangka Teori

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian gel topikal ekstrak bunga telang 5% dan 10 % dapat meningkatkan kadar IL-10 dan meningkatkan kadar GPx pada tikus galur wistar jantan yang terpapar sinar UVB antar kelompok perlakuan dibanding kontrol.

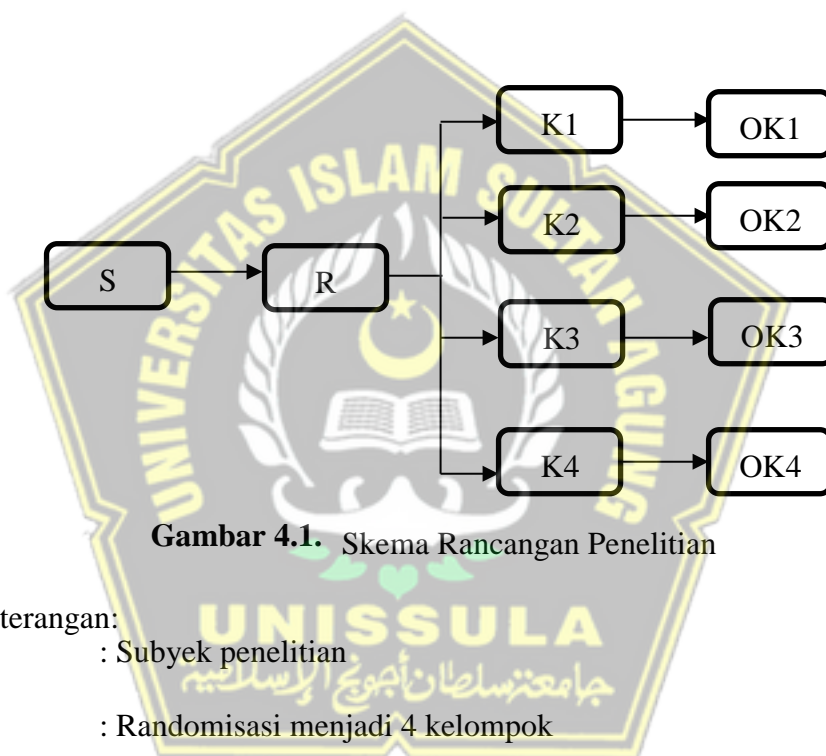


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design* terhadap hewan coba tikus jantan galur *wistar*.



Keterangan:

S : Subyek penelitian

R : Randomisasi menjadi 4 kelompok

K1 : Kelompok kontrol normal yang diberi pakan *standard* tanpa diberi paparan sinar UV-B (energi 160 mJ/cm^2 dengan waktu 20 menit selama 5 hari)

K2 : Kelompok yang diberi pakan *standard* dan diberi paparan sinar UV-B (energi 160 mJ/cm^2 dengan waktu 20 menit selama 5 hari)

K3 : Kelompok perlakuan yang diberi dosis gel ekstrak bunga telang 5% dan diberi paparan sinar UV-B. (energi 160 mJ/cm^2 dengan waktu 20 menit selama 5 hari)

- K4 : Kelompok perlakuan yang diberi dosis gel ekstrak bunga telang 10% dan diberi paparan sinar UV-B. (energi 160 mJ/cm^2 dengan waktu 20 menit selama 5 hari)
- OK1 : Observasi pada kelompok 1
- OK2 : Observasi pada kelompok 2
- OK3 : Observasi pada kelompok 3
- OK4 : Observasi pada kelompok 4

4.2. Populasi Penelitian

Populasi penelitian yaitu tikus jantan galur *wistar* berumur 10-12 minggu, dengan berat 180-220 gram, yang dipelihara di Laboratorium Hewan PSPG UGM. Tikus diberi pakan *pellet* yang terstandar merk Citrafeed dan air minum berupa aquades suhu ruangan pemeliharaan berkisar $28^{\circ} - 32^{\circ} \text{ C}$ dengan ventilasi dan luas ruangan yang cukup. Tikus diadaptasikan selama 7 hari sebelum diberi perlakuan.

4.2.1. Teknik Pengambilan Sampel

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

4.2.2. Kriteria Inklusi

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

4.2.3. Kriteria Eksklusi

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

4.2.4. Kriteria *Drop Out*

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

4.2.5. Jumlah Sampel

Menurut WHO besar sampel perkelompok minimal 5 ekor dengan cadangan 10% (1 ekor) untuk menghindari *loss of follow*.⁵¹ Sampel dirandomisasi menggunakan cara *simple random sampling*, dibagi menjadi 4 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Jumlah keseluruhan sampel tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 24 ekor.

4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel Bebas

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

4.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar IL-10 dan kadar GPx.

4.4. Definisi Operasional

Definisi yang diberikan kepada suatu variable dengan cara memberikan arti atau menspesifikan kegiatan, ataupun memberikan suatu operasional yang diperlukan untuk mengukur variable tertentu.

Tabel 4.1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Skala
Bunga Telang	Didapat dari perkebunan lokal di Surabaya, merupakan ekstrak dari bunga Telang (<i>Clitorea ternatea L</i>) yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol yang dibuat sediaan gel dengan dosis 5% dan 10%. Gel ekstrak bunga telang 200mg dioleskan di punggung tikus 1x sehari, selama 14 hari	Ordinal
Kadar IL-10	IL-10 merupakan sitokin anti-inflamasi dalam sistem imun. IL-10 berfungsi sebagai inhibitor yang kuat dalam proses produksi sitokin oleh Th1 termasuk IL-2 dan IFN γ . Fungsi utamanya adalah mengurangi inflamasi, selain mengendalikan perkembangan dan diferensiasi. Digunakan metode ELISA dan dibaca menggunakan ELISA reader dengan panjang gelombang 450 nm	Rasio
Kadar GPx	Banyaknya GPx di dalam darah tikus galur <i>wistar</i> yang dinyatakan dalam satuan ng/mL, yang diukur dengan metode ELISA dan dibaca menggunakan ELISA reader panjang gelombang 450 nm	Rasio

4.5. Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1. Alat

Penelitian ini menggunakan peralatan untuk membuat hewan model yang terdiri dari UV *light* (puncak emisi 302 nm) dengan energi 160 mJ/cm², alat potong rambut elektrik, kandang paparan, kandang pemeliharaan, dan tempat air minum tikus. Peralatan yang digunakan untuk pengambilan data antara lain *swing sentrifuge*, *vacutainer EDTA*, tabung hematokrit, pot 5 mL, 6 mm *biopsy punch*, mikropipet, 1000 uL micropipet tip, dan *vial tube* 1,5 mL. Alat yang digunakan untuk analisis data adalah RT-PCR.

4.5.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri ekstrak bunga telang, RNA later, PBS (*Phosphate Buffered Saline*), DNA *isolation* kit, PCR analisis kit, aquades, ketamin, *xylazine water base gel*, etanol, akuades, pakan tikus, dan kloroform.

4.6. Cara Penelitian

4.6.1. Perolehan *Ethical Clearance*

Permohonan *ethical clearance* penelitian telah diajukan kepada komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang (Terlampir).

4.6.2. Pembuatan Ekstrak Bunga Telang

Bunga Telang sebanyak \pm 3000 gram dicacah, didehidrasi pada suhu 50 – 60° C dan dihaluskan menjadi bubuk kering. Bubuk kering

diekstraksi melalui proses maserasi menggunakan etanol 96% 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.

4.6.3. Penetapan Dosis

Dosis pemberian ekstrak bunga telang secara topical ditentukan sebelum penelitian dengan studi literatur. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa dosis ekstrak bunga telang 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 konsentrasi 1%, 2,5%, 5%, 7,5%, dan 10% sebagai bahan baku produk perawatan kecantikan alami menunjukkan hasil 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 pemutihan, dan hasilnya meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Sehingga penelitian ini menggunakan dosis 5 % dan 10 % pada pemberian ekstrak Bunga Telang secara topical. Penggunaan topikal gel bunga telang dilakukan setiap hari sebanyak 200

mg/tikus, sehingga dosis ekstrak Bunga Telang yang digunakan adalah 10 mg/tikus untuk dosis 5% dan 20 mg/tikus untuk dosis 10%

4.6.4. Pembagian Kelompok

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

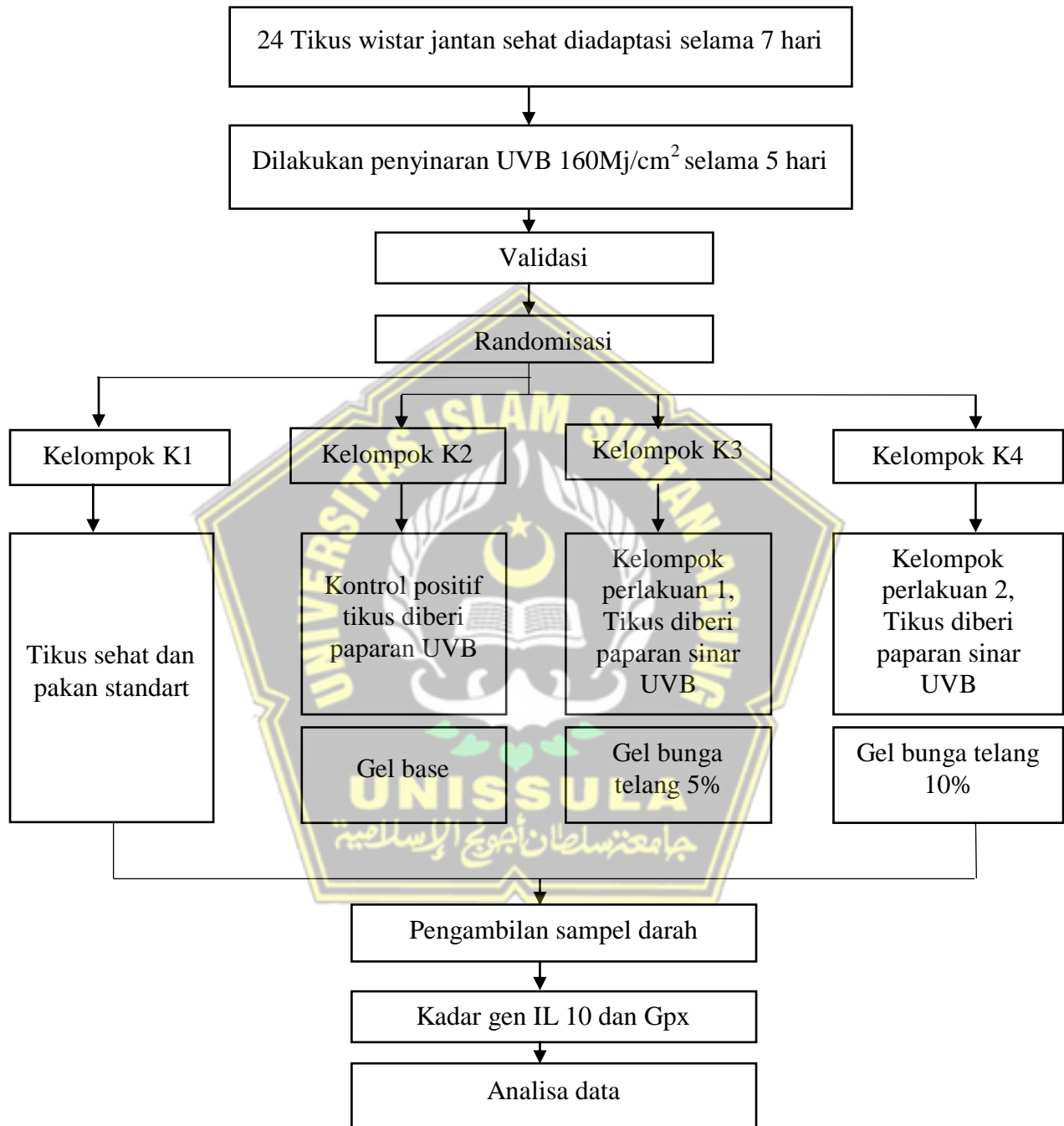
1. Kelompok I : Tikus Sehat (tidak mendapatkan paparan apapun).
2. Kelompok II : Kelompok Kontrol (Kontrol Positif, tikus dipapar UV-B dengan pemberian base gel secara topikal)
3. Kelompok III :Kelompok perlakuan 1 (Perlakuan 1, tikus dipapar UV-B dengan perlakuan gel ekstrak bunga telang 5% secara topikal)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

4.6.5. Prosedur Pemeriksaan *Glutathione Peroxide* (GPx)

Darah tikus sebanyak 2 mL diambil dengan kapiler mikrohematokrit dari sinus orbitalis, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi. Tabung reaksi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit untuk memisahkan serum dan sel-sel darah. Disiapkan reagen, sampel dan larutan *standard*. Diusahakan sudah berada dalam suhu ruang +/- 30 menit sebelum

larutan dipakai. Diambil *plate* dan *strip* yang berisi sumuran sesuai kebutuhan, untuk *strip* yang tidak dipakai bisa disimpan dalam pendingin dengan suhu 2-8°C. Dimasukkan 50µl larutan *standard* ke dalam sumuran. Dimasukkan 40µl sampel ke dalam sumuran dan tambahkan 10µl anti-GPx antibodi ke dalam sumuran yang berisi sampel, setelah itu tambahkan 50µl streptavidin-HRP ke dalam sumuran *standard* dan sampel (kecuali kontrol negatif), campur larutan dan tutup dengan *sealer* lalu inkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1jam. Dibuka *sealer* dan cuci sumuran selama 5x dengan *buffer* cuci sebanyak 0,35 mL setiap sumuran sampai sumuran penuh, dan serap menggunakan tisu hingga kering. Dimasukkan 50µl larutan substrat A dan 50µl larutan substrat B ke dalam semua sumuran, lalu inkubasi ke dalam inkubator dengan suhu 37°C dengan kondisi tertutup (gelap) selama 10 menit (hingga larutan berubah dari bening menjadi biru). Dikeluarkan *plate* berisi sumuran tambahkan 50 µl larutan stop ke dalam sumuran, larutan akan berubah dari warna biru menjadi kuning. selanjutnya masukkan *plate* ke dalam ELISA *reader* untuk dibaca absorbansi warnanya dengan panjang gelombang baca 450 nm (hasil valid jika pembacaan dilakukan dibawah 10 menit).

4.7. Alur Penelitian



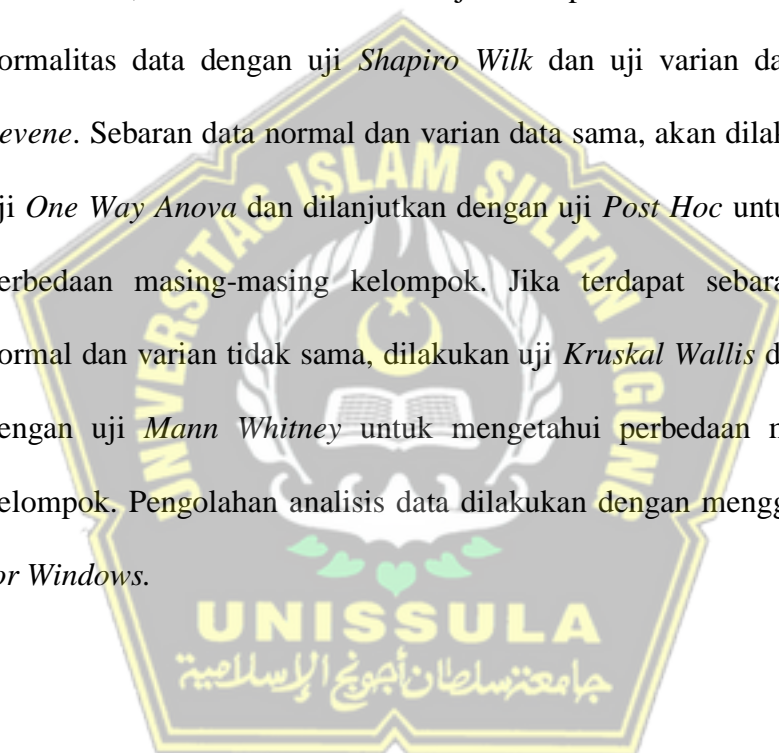
Gambar 4.1. Alur Penelitian

4.8. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada Januari 2024 di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

4.9. Analisis Data

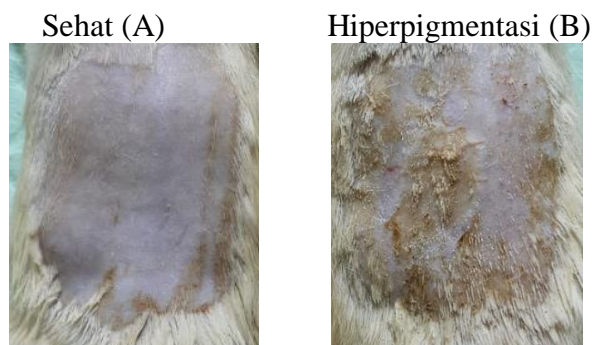
Data yang sudah didapat, diproses, disunting, ditabulasi, dan dibersihkan, kemudian dilakukan uji deskriptif. Kemudian dilakukan uji normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji varian data dengan uji *Levene*. Sebaran data normal dan varian data sama, akan dilakukan uji beda uji *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok. Jika 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 yang diinduksi hiperpigmentasi menggunakan UV-B 302 nm dengan intensitas energi UVB 160 mJ/cm² selama 5 hari. Jumlah tikus yang digunakan adalah 24 ekor tikus. Penelitian ini terdiri dari 4 kelompok dengan 2 kelompok perlakuan, 1 kelompok sehat, dan 1 kelompok UVB positif. Kelompok perlakuan pertama (K1) terdiri atas 6 hewan uji dengan pemberian gel bunga telang 5% dan kelompok kedua (K2) terdiri atas 6 hewan uji dengan pemberian gel bunga telang 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 selama 5 hari, selanjutnya diberikan perlakuan pemberian gel bunga telang 5% dan 10% pada K1 dan K2 selama 14 hari. Pada hari ke-26 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. Data Hasil Penelitian kadar IL-10 dan kadar GPx

Variabel	Kelompok				P Value
	K1	K2	K3	K4	
	Mean ± SD n = 6	Mean ± SD n = 6	Mean ± SD n = 6	Mean ± SD n = 6	
Kadar IL-10	104,7±3,26	33,16±2,98	83,27±3,11	90,66±4,00	
<i>Saphiro Wilk</i>	0,350	0,919	0,807	0,677	
<i>Levene's Test</i>					0,816
<i>One Way Anova</i>					0,000
Kadar GPx	62,43±0,85	29,54±0,85	44,90±1,44	54,09±1,00	
<i>Saphiro Wilk</i>	0,180	0,204	0,297	0,245	
<i>Levene's Test</i>					0,223
<i>One Way Anova</i>					0,000

Berdasarkan hasil penelitian yang di tunjukkan pada tabel 5.1. Rerata kadar IL-10 di K1 yang tertinggi, kemudian diikuti oleh rerata kadar IL-10 kelompok K4. Selanjutnya rerata kadar IL-10 kelompok K3 dan yang terendah ada pada rerata kadar IL-10 kelompok K2. Data kadar 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 gen IL-10 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-10 yang bermakna diantara keempat kelompok. Hasil uji *Oneway Anova* yang signifikan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk melihat dosis gel bunga telang yang paling berpengaruh.

Rerata kadar GPx di K1 yang tertinggi, kemudian diikuti oleh rerata kadar GPx kelompok K4. Selanjutnya rerata kadar GPx kelompok K3 dan yang terendah ada pada rerata kadar GPx kelompok K2. Data kadar GPx

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 GPx 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 GPx yang bermakna diantara keempat kelompok. Hasil uji *Oneway Anova* yang signifikan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk melihat dosis gel bunga telang yang paling berpengaruh.

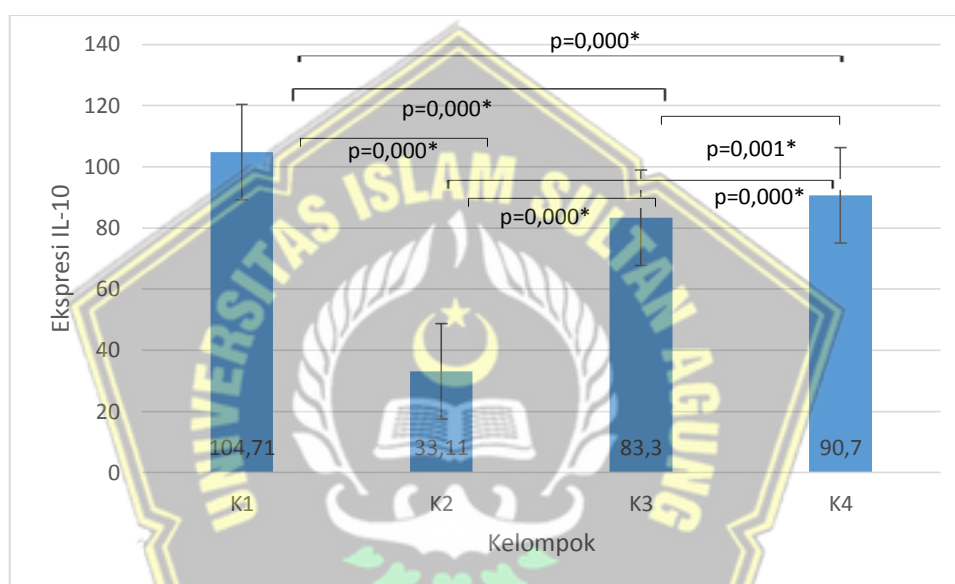
Tabel 5.2. Uji *Post-hoc* LSD kadar IL-10 dan kadar GPx antar kelompok penelitian

	Kelompok	Kelompok Perbandingan	Signifikansi
IL-10	K1	K2	0,000*
		K3	0,000*
		K4	0,000*
	K2	K3	0,000*
		K4	0,000*
	K3	K4	0,001*
GPx	K1	K2	0,000*
		K3	0,000*
		K4	0,000*
	K2	K3	0,000*
		K4	0,000*
	K3	K4	0,000*

5.1.1. Kadar IL-10

Uji *Post Hoc* diperoleh nilai $p < 0,05$ untuk perbandingan rerata kadar IL-10 antara K1 dengan K2, K3, dan K4 (0,000). Rerata K1 dengan K2 (0,000) ada perbedaan yang bermakna, K2 dan K3 (0,000) terdapat perbedaan yang bermakna. Pada K3 dan K4 (0,001) ada perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok tersebut.

Hasil uji *Post Hoc LSD* pada data kadar IL-10 menunjukkan bahwa dosis gel bunga telang 5% dan 10 % dapat meningkatkan kadar IL-10 pada tikus jantan galur wistar hiperpigmentasi. Meskipun kedua pemberian dosis mampu meningkatkan kadar IL-10, perlakuan K4 memiliki pengaruh yang signifikan dibandingkan dengan perlakuan K3.



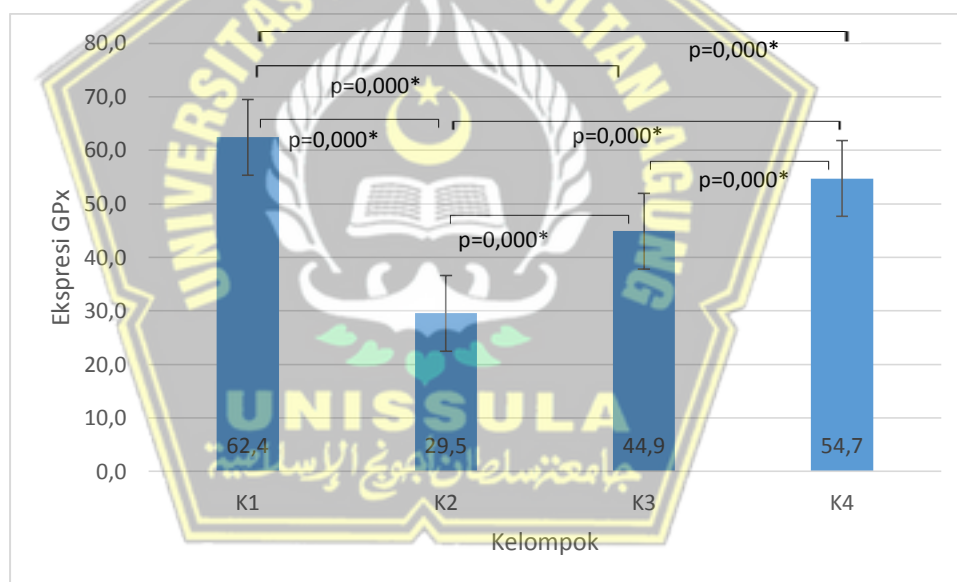
Gambar 5.2. Kadar IL-10

Paparan sinar UVB dengan intensitas sedang hingga tinggi terbukti menginduksi stress oksidatif yang mengarah pada hiperpigmentasi kulit. Sitokin yang diekspresikan oleh sel melanocytes seperti IL-10 menghambat akumulasi *reactive oxygen species* (ROS).

5.1.2. Kadar GPx

Uji *Post Hoc* diperoleh nilai $p < 0,05$ untuk perbandingan rerata kadar GPx antara K1 dengan K2, K3, dan K4 (0,000). Rerata

K1 dengan K2 (0,000) ada perbedaan yang bermakna, K1 dan K3 (0,000) terdapat perbedaan yang bermakna. Pada K3 dan K4 (0,000) ada perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok tersebut. Hasil uji *Post Hoc LSD* pada data kadar GPx menunjukkan bahwa dosis gel bunga telang 5% dan 10 % dapat meningkatkan kadar GPx pada tikus jantan galur wistar hiperpigmentasi. Meskipun kedua pemberian dosis mampu meningkatkan kadar GPx, perlakuan K4 memiliki pengaruh yang signifikan dibandingkan dengan perlakuan K3.



Gambar 5.3. Kadar GPx

Hiperpigmentasi merupakan kondisi patologis kulit yang perbaikan dan pencegahannya melibatkan reaksi regenerasi jaringan termasuk pencegahan melanogenesis dan rekonstruksi kolagen. Paparan sinar UVB terbukti menginduksi degradasi kolagen dengan peningkatan enzim MMPs. Sitokin yang diekspresikan seperti IL-1,

IL-6 dan TGF- β mampu menghambat sintesis enzim MMPs dan mencegah degradasi kolagen dengan menekan jalur *mitogen activated protein kinase* (MAPK) sehingga meningkatkan kadar GPx.

5.2. Pembahasan

Paparan UVB adalah faktor resiko utama hiperpigmentasi kulit yang ditandai dengan peningkatan ekspresi protein pembentuk melanin seperti MITF.⁵² Radiasi sinar UVB menginduksi kerusakan DNA melalui pembentukan ROS oksidatif, yang mengakibatkan aktivasi beberapa jalur melanogenesis.⁵³ Ekstrak bunga telang mengandung flavonoid, fenol, tanin, saponin, phlobatannin, triterpenoid, karbohidrat, alkaloid, glikosida, antrakuinon, steroid dan minyak volatil.⁵⁴ Kandungan senyawa flavonoid bunga telang terbanyak adalah senyawa antosianin dengan berbagai struktur seperti ternatin A1, A2, B1, B2, D1, D2, Preternatin A3 dan A4, dan delphinidine. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa golongan flavonoid pada bunga telang yang paling berperan dalam aktivitas biologisnya. Bunga telang memiliki aktivitas farmakologi antara lain antioksidan, anti-inflamasi dll.⁵⁵ Golongan senyawa dalam tanaman yang memiliki aktivitas anti-inflamasi antara lain flavonoid dan fenolik. Flavonoid memiliki beberapa mekanisme aksi anti-inflamasi, misalnya menghambat enzim seperti Ca²⁺-ATP-ase, xanthine oxidase, phosphodiesterase, aldose reduktase, lipoxygenase, dan siklooksigenase.⁵⁶

Mekanisme aksi fenolik sebagai anti-inflamasi adalah menghambat enzim siklooksigenase dan prostaglandin serta menangkap radikal bebas

yang memicu terjadinya biosintesis arakidonat yang menjadi mediator terjadinya inflamasi.⁵⁷ ROS yang terbentuk akibat paparan sinar UV akan mengaktivasi Activator Protein 1 (AP-1) yang menyebabkan down-regulation kadar gen TGF- β 1 yang berperan dalam sintesis kolagen sehingga terjadi peningkatan degradasi kolagen yang memunculkan manifestasi klinis berbentuk solar scar ataupun kerut. Selain itu, sinar UVB juga menyebabkan *down-regulation* kadar IL-10 yang merupakan komponen kunci dari sitokin.

Kadar IL-10 berperan dalam mengatur dan menekan kadar sitokin proinflamasi selama fase pemulihan infeksi dan akibatnya mengurangi kerusakan yang disebabkan oleh sitokin inflamasi. Kadar sitokin anti-inflamasi (IL-10) memiliki efek menghambat pigmentasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gel bunga telang terhadap kadar IL-10 dan GPx pada tikus model hiperpigmentasi. Penelitian ini menggunakan tikus jantan galur wistar karena termasuk vertebrata mamalia dengan struktur kulit mirip kulit manusia. Hewan uji di induksi paparan sinar UVB 302 nm dengan intensitas energi UVB 160 mJ/cm² selama 5 hari. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa kadar IL-10 pada kelompok K3 (gel bunga telang 5%) dan K4 (gel bunga telang 10%) mengalami peningkatan secara signifikan dibandingkan kelompok tikus hiperpigmentasi yang tidak mendapatkan terapi (K2). Hal ini menunjukan bahwa peningkatan kadar IL-10 dapat mencegah hiperpigmentasi. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa efek antiinflamasi ekstrak bunga telang pada peradangan yang

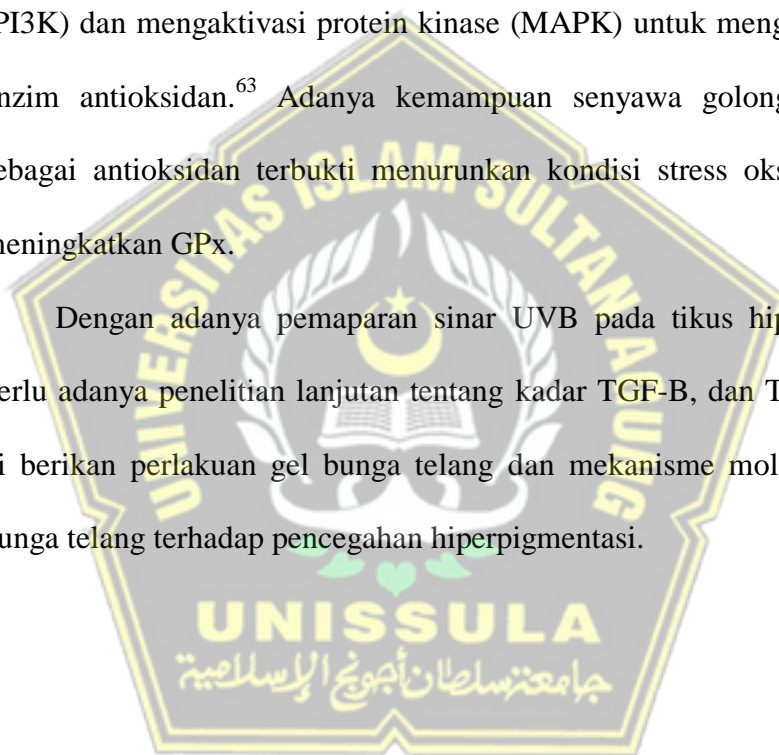
diinduksi oleh lipopolisakarida pada lini sel makrofag dan menghambat NF κ - β dan terjadi polarisasi M1 menjadi M2, dengan hasil yaitu VEGF, IL-10, dan TGF- β .⁵⁸

Penelitian ini lebih lanjut menunjukkan efek peningkatan gel bunga telang pada kadar GPx. Flavonoid dapat menangkap radikal bebas secara efektif dengan membentuk radikal semikuinon yang akan berikatan dengan radikal bebas untuk membentuk struktur kuinon yang stabil.⁵³ Penelitian-penelitian sebelumnya telah mengkonfirmasi bahwa senyawa antioksidan seperti flavonoid mampu menurunkan dan menjaga keseimbangan kadar ROS dengan cara meningkatkan pembentukan antioksidan.⁵⁹ Regulasi keseimbangan antara level ROS dan antioksidan sangat penting dalam beberapa jalur transduksi sinyal seluler diantaranya pengaturan diferensiasi, proliferasi, migrasi, kelangsungan hidup, dan apoptosis. GPx atau adalah enzim yang secara bergantian mengkatalisis 2 GSH teroksidasi menjadi molekul GSH stabil (GSSG) dan dua molekul air (2H₂O).⁴⁹ GSH teroksidasi diproduksi sebagai produk sampingan dari metabolisme oksigen dan lipid, jika tidak diatur, menyebabkan banyak jenis kerusakan sel. Dengan demikian, GPx merupakan pertahanan antioksidan penting di semua sel hidup yang terpapar oksigen radikal.⁶⁰

Telah dilaporkan bahwa GPx adalah salah satu faktor yang menghambat penurunan kolagen akibat paparan sinar UV-B.⁶¹ Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa radiasi UV-B mampu menekan GPx secara signifikan, sedangkan diinduksi oleh paparan UV-B yang terus

menerus dapat mengakibatkan stres fotooksidatif kronis.⁶² Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak bunga telang dapat meningkatkan kadar GPx secara signifikan di bandingkan kelompok kontrol UV-B (K2). Senyawa golongan flavonoid seperti quercetin membentuk ikatan hidrogen melalui gugus 3'-OH menyebabkan penghambatan aktivitas protein kinase kinase (MEK1). Quercetin juga menghambat aktivasi phosphoinositide 3-kinase (PI3K) dan mengaktifasi protein kinase (MAPK) untuk menginduksi kadar enzim antioksidan.⁶³ Adanya kemampuan senyawa golongan flavonoid sebagai antioksidan terbukti menurunkan kondisi stress oksidatif dengan meningkatkan GPx.

Dengan adanya pemaparan sinar UVB pada tikus hiperpigmentasi, perlu adanya penelitian lanjutan tentang kadar TGF-B, dan TRP1/2 setelah di berikan perlakuan gel bunga telang dan mekanisme molekuler ekstrak bunga telang terhadap pencegahan hiperpigmentasi.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Pemberian gel bunga telang 5% dan 10 % berpengaruh secara signifikan meningkatkan terhadap kadar IL-10 pada tikus galur wistar jantan yang dipapar UVB dibandingkan kelompok kontrol (sig P=0,000).
2. Pemberian gel bunga telang 5% dan 10 % berpengaruh secara signifikan meningkatkan terhadap kadar GPx pada tikus galur wistar Jantan yang dipapar UVB dibandingkan kelompok kontrol (sig P=0,000).

6.2. Keterbatasan Penelitian

1. Peneliti tidak mengekspresikan GPx dan IL-10 dalam ekstrak gel bunga telang.
2. Peneliti keterbatasan waktu, biaya, dan tenaga sehingga kurang maksimal.

6.3. Saran

Saran dari peneliti untuk penelitian selanjutnya adalah:

1. Perlu dilakukan kadar TGF-B, dan TRP1/2 setelah dilakukan pemberian gel bunga telang pada tikus model hiperpigmentasi.
2. Perlu dilakukan pemeriksaan kadar hingga ke tahap jaringan setelah pemberian gel bunga pada tikus model hiperpigmentasi.
3. Penelitian dapat dilanjutkan pada fase klinis untuk mengetahui pengaruh gel bunga telang terhadap kulit manusia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Son, D. J. *et al.* Wheat extract oil (WEO) attenuates UVB-induced photoaging via collagen synthesis in human keratinocytes and hairless mice. *Nutrients* **12**, 1–13 (2020).
2. Friese C, Yang J, M.-V. K. and M. M. NF- κ B in Oxidative Stress. *Physiol. Behav.* **46**, 248–256 (2019).
3. Su, C. M., Wang, L. & Yoo, D. Activation of NF- κ B and induction of proinflammatory cytokine expressions mediated by ORF7a protein of SARS-CoV-2. *Sci. Rep.* **11**, 1–12 (2021).
4. Kunchana, K., Jarisarapurin, W., Chularojmontri, L. & Wattanapitayakul, S. K. Potential use of amla (*Phyllanthus emblica* L.) fruit extract to protect skin keratinocytes from inflammation and apoptosis after uvb irradiation. *Antioxidants* **10**, (2021).
5. Yuniastuti, A. & Susanti, R. Analisis sekuen gen glutation peroksidase (gpx1) sebagai deteksi stres oksidatif akibat infeksi mycobacterium tuberculosis. *J. Sain dan Teknol.* 103–112 (2013).
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. Saputra, I. B., Furqaani, A. R. & Hikmawati, D. Kajian Lama Papanan Radiasi Ultraviolet (UV) sebagai Faktor Risiko Melasma. *Unisba* **7**, 167–169 (2021).
8. Asditya, A. & Sukanto, H. Studi Retrospektif: Profil Pasien Melasma (Profile of Melasma Patients: A Retrospective Study). *Berk. Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin* **29**, 220–228 (2017).
9. Yan, W. *et al.* Transcriptome analysis of two Pogostemon cablin chemotypes reveals genes related to patchouli alcohol biosynthesis. *PeerJ* **9**, (2021).
10. Wölfle, U. *et al.* UVB-induced DNA damage, generation of reactive oxygen species, and inflammation are effectively attenuated by the flavonoid luteolin in vitro and in vivo. *Free Radic. Biol. Med.* **50**, 1081–1093 (2011).
11. Sarkar, R., Ailawadi, P. & Garg, S. Melasma in men: A review of clinical, etiological, and management issues. *J. Clin. Aesthet. Dermatol.* **11**, 53–59 (2018).
12. Cunningham, C. J., Redondo-Castro, E. & Allan, S. M. The therapeutic potential of the mesenchymal stem cell secretome in ischaemic stroke. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **38**, 1276–1292 (2018).

13. Kumar, R. T., Kumar, S. R. & Anju. Phytochemical and antibacterial activities of crude leaf and root extracts of *Clitoria ternatea* varieties (Fabaceae). *J. Pharmacogn. Phytochem.* **6**, 1104–1108 (2017).
14. 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).
15. Xiang, Y. *et al.* Alleviation of Rosup-induced oxidative stress in porcine granulosa cells by anthocyanins from red-fleshed apples. *PLoS One* **12**, 1–16 (2017).
16. 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).
17. Rahayu, S., Vifta, R. & Susilo, J. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) dari Kabupaten Lombok Utara dan Wonosobo Menggunakan Metode FRAP. *Generics J. Res. Pharm.* **1**, 1–9 (2021).
18. Zakaria, N. N. A., Okello, E. J., Howes, M. J., Birch-Machin, M. A. & Bowman, A. In vitro protective effects of an aqueous extract of *Clitoria ternatea* L. flower against hydrogen peroxide-induced cytotoxicity and UV-induced mtDNA damage in human keratinocytes. *Phyther. Res.* **32**, 1064–1072 (2018).
19. Zagórska-Dziok, M., Ziemlewska, A., Bujak, T., Nizioł-Iukaszewska, Z. & Hordyjewicz-Baran, Z. Cosmetic and dermatological properties of selected ayurvedic plant extracts. *Molecules* **26**, (2021).
20. Jayanti, M., Ulfa, A. M. & Yasir, A. S. The Formulation and Physical Evaluation Tests of Ethanol in Telang Flower (*Clitoria ternatea* L.) Extract Losio Form as Antioxidant. *Biomed. J. Indones.* **6**, 357–363 (2020).
21. 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).
22. Sulistyawati, S. W., Basuki, S. & Dachlan, Y. P. Ekspresi mRNA Interleukin-10 (IL-10) dalam Kaitannya dengan Patogenesis Malaria Berat Pada Mencit Strain BALB/C yang Diinfeksi Plasmodium yoelli 17XL. *J. Biosains Pascasarj.* **20**, 170 (2018).
23. Steen, E. H. *et al.* The Role of the Anti-Inflammatory Cytokine Interleukin-10 in Tissue Fibrosis. *Adv. Wound Care* **9**, 184–198 (2020).
24. Iyer, S. S. & Cheng, G. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. *Crit. Rev. Immunol.* **32**, 23–63

- (2012).
25. Ighodaro, O. M. & Akinloye, O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria J. Med.* **54**, 287–293 (2018).
 26. Yuniastuti, A. *DASAR MOLEKULER GLUTATION DAN PERANNYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN*. (2016).
 27. Michael Salvatore Scimeca. EFFECTS OF GLUTATHIONE PEROXIDASE 1, GLUTATHIONE PEROXIDASE 4 AND COPPER, ZINC-SUPEROXIDE DISMUTASE GENE KNOCKOUTS ON ENZYME ACTIVITIES, BODY SELENIUM AND RESISTANCE TO OXIDATIVE AND NITROSATIVE STRESSES. *Thesis* **7**, 147–173 (2005).
 28. Dunford HB. *Peroxidases and Catalases: Biochemistry, Biophysics, Biotechnology and Physiology*. Wiley. (2010).
 29. Winarsi, H., Yuniati, A. & Purwanto, A. Deteksi Aging pada Perempuan Berdasarkan Status Antioksidan. *Maj. Kedokt. Bandung* **45**, 141–146 (2013).
 30. Nazar, M. A., Sari, D. C. R., Putra, A. & Arfian, N. Effect of high-fat diet on sod2, gpx, neun and bdnf expression on frontal lobe of obese rats. *Malaysian J. Med. Heal. Sci.* **17**, 162–165 (2021).
 31. Ismanto, H. Hubungan Kadar Timbal (Pb) dengan Kadar Malondialdehid (MDA) dalam Darah pada Ibu Hamil di Wilayah Pantai Kabupaten Brebes. *Media Kesehat. Masy. Indones.* **18**, 28–34 (2019).
 32. L, F. Glutathione. in *CRC Press* 6–11 (2018).
 33. Phansuk, K., Vachiramon, V., Jurairattanaporn, N., Chanprapaph, K. & Rattananukrom, T. Dermal Pathology in Melasma: An Update Review. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* **15**, 11–19 (2022).
 34. 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).
 35. Lentsch, G. *et al.* In vivo multiphoton microscopy of melasma. *Pigment Cell Melanoma Res.* **32**, 403–411 (2019).
 36. Zahara, M. Ulasan singkat: Deskripsi Kembang Telang (*Clitoria ternatea* L.) dan Manfaatnya. *J. Jeumpa* **9**, 719–728 (2022).
 37. Budiyati, C. S., Zussiva, A. & Bertha, K. L. Ekstraksi dan Analisis Zat Warna Biru (Anthosianin Anthosianin) dari Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) Sebagai Pewarna Alami. *J. Teknol. Kim. dan Ind.* **1**, 356–365 (2012).

38. Hawari, H., Pujiasmanto, B. & Triharyanto, E. Morfologi dan kandungan flavonoid total bunga telang (*Clitoria Ternatea* L.) di berbagai ketinggian. *Kultivasi* **21**, 88–96 (2022).
39. Manjula, P., Mohan, C. H., Sreekanth, D., Keerthi, B. & Devi, B. P. Phytochemical analysis of *Clitoria Ternatea* Linn., A valuable medicinal plant. *J. Indian bot. Soc* **92**, 173–178 (2013).
40. Khan, M. S. *et al.* Anthocyanins protect against LPS-induced oxidative stress-mediated neuroinflammation and neurodegeneration in the adult mouse cortex. *Neurochem. Int.* **100**, 1–10 (2016).
41. Waruwu, I. S., Rawar, E. A. & Kristiyani, A. Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Fenolik Total Serta Uji Penghambatan Denaturasi Protein Dalam Seduhan Teh Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.). *Maj. Farm. Farmakol.* **27**, 47–51 (2023).
42. Hidayati, A. N., Pudjirahardjo, W. J. & Pohan, S. S. Paparan 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).
43. Friese C, Yang J, M.-V. K. and M. M. Innate and adaptive immune responses against *Staphylococcus aureus* skin infections. *Physiol. Behav.* **46**, 248–256 (2019).
44. Marpaung, A. M. Tinjauan manfaat bunga telang (*clitoria ternatea* l.) bagi kesehatan manusia. *J. Funct. Food Nutraceutical* **1**, 63–85 (2020).
45. Das, K. & Roychoudhury, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Front. Environ. Sci.* **2**, 1–13 (2014).
46. Musaogullari, A., Mandato, A. & Chai, Y. C. Role of Glutathione Depletion and Reactive Oxygen Species Generation on Caspase-3 Activation: A Study With the Kinase Inhibitor Staurosporine. *Front. Physiol.* **11**, (2020).
47. Kom, H. H., Nageshwar, M., Srilatha, K. & Reddy, K. P. Protective effect of quercetin on weight drop injury model-induced neuroinflammation alterations in brain of mice. *J. Appl. Pharm. Sci.* **9**, 96–103 (2019).
48. Alam, M. B., Ahmed, A., Motin, M. A., Kim, S. & Lee, S. H. Attenuation of melanogenesis by *Nymphaea nouchali* (Burm. f) flower extract through the regulation of cAMP/CREB/MAPKs/MITF and proteasomal degradation of tyrosinase. *Sci. Rep.* **8**, 1–14 (2018).
49. Tsubouchi, K. *et al.* Involvement of GPx4-Regulated Lipid Peroxidation in Idiopathic Pulmonary Fibrosis Pathogenesis. *J. Immunol.* **203**, 2076–2087 (2019).

50. Fu, C. *et al.* Roles of inflammation factors in melanogenesis (Review). *Mol. Med. Rep.* **21**, 1421–1430 (2020).
51. Dell, R. B., Holleran, S. & Ramakrishnan, R. Sampel Size Determination. *Ilar J* **43**, 207–213 (2002).
52. You, Y. J. *et al.* Sesamol inhibited ultraviolet radiation-induced hyperpigmentation and damage in C57BL/6 mouse skin. *Antioxidants* **8**, 1–16 (2019).
53. 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).
54. Purwaniati, P., Arif, A. R. & Yuliantini, A. ANALISIS KADAR ANTOSIANIN TOTAL PADA SEDIAAN BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea*) DENGAN METODE pH DIFERENSIAL MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI VISIBEL. *J. Farmagazine* **7**, 18 (2020).
55. Denta Kusuma, A. Potensi Teh Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) sebagai Obat Pengencer Dahak Herbal Melalui Uji Mukositas. *Risenologi* **4**, 65–73 (2019).
56. Khoirunnisa, I. & Sumiwi, S. A. Review Artikel: Peran Flavonoid Pada Berbagai Aktifitas Farmakologi. *Farmaka* **17**, 131–142 (2019).
57. Anisa, N. *et al.* Efektifitas Anti Inflamasi Daun Mangga (*Mangifera Indica*) Terhadap Luka Bakar Derajat Dua The Effectiveness of Anti Inflation Mangoes Leaves (*Mangifera Indica*) Against Burns Degrees Two. *J. B-Dent* **VIII**, 1–7 (2019).
58. Marpaung, E. W. B. H. Dinamika Mortalitas Dalam Kejadian Luar Biasa: Studi Kasus Pandemi Coronavirus Desease 2019 (Covid-19) Tahun 2020. *SELL J.* **5**, 55 (2020).
59. Zaidun, N. H., Thent, Z. C. & Latiff, A. A. Combating oxidative stress disorders with citrus flavonoid: Naringenin. *Life Sci.* **208**, 111–122 (2018).
60. Richter, K., Konzack, A., Pihlajaniemi, T., Heljasvaara, R. & Kietzmann, T. Redox-fibrosis: Impact of TGFβ1 on ROS generators, mediators and functional consequences. *Redox Biol.* **6**, 344–352 (2015).
61. Li, X. *et al.* The protective effects of 6-CySeCD with GPx activity against UVB-induced injury in HaCaT cells. *Australas. J. Dermatol.* **54**, 120–125 (2013).
62. Yokawa, K., Kagenishi, T. & Baluška, F. UV-B induced generation of reactive oxygen species promotes formation of BFA-induced compartments in cells of *Arabidopsis* root apices. *Front. Plant Sci.* **6**, 1–10 (2016).
63. Brunetti, C., Di Ferdinando, M., Fini, A., Pollastri, S. & Tattini, M. Flavonoids as antioxidants and developmental regulators: Relative

significance in plants and humans. *Int. J. Mol. Sci.* **14**, 3540–3555 (2013).

