

**PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK BUNGA
TELANG (*Clitoria ternatea*) TERHADAP EKSPRESI
TNF- α DAN CASPASE 3**

**(Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus
norvegicus*) yang dipapar sinar UV-B akut)**

TESIS

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Yulisa Afriani Ninasara

MBK.2322010396

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG 2025**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK BUNGA
TELANG (*Clitoria ternatea*) TERHADAP EKSPRESI
TNF- α DAN CASPASE 3**

**(Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus
norvegicus*) yang dipapar sinar UV-B akut)**

Disusun Oleh:

Yulisa Afriani Ninasara

MBK 23.22.010396

Yang dipertahankan didepan Tim Penguji

Februari 2025

dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui:

Pembimbing I

Pembimbing II



Dr.dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes
NIK: 0616116601



Dr. Drs. Israhnanto Isradji M. Si
NIK: 210189027

Mengetahui

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung



Dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS
NIK: 210113160

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya 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 atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan didalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Februari 2025



(Yulisa Afriani Ninasara)

KATA PENGANTAR



Dengan memanjatkan Puji dan Syukur Kehadirat Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunianya pada penulis, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis yang berjudul: **PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea*) TERHADAP EKSPRESI TNF- α DAN CASPASE 3 Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar sinar UV-B** Tesis ditulis dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Magister (S.2) Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Penulis menyadari bahwa tesis dapat diselesaikan berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis berterima kasih kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan kontribusi dalam menyelesaikan Tesis ini. Penulis ingin menyampaikan terima kasih sedalam-dalamnya kepada :

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 Biomedik.
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H.,Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

4. Dr.dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku pembimbing I dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan tesis.
5. Dr. Drs. Israhanto Isradji M. Si selaku pembimbing II dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan tesis.
6. Prof. Dr. Atina Husaana, M.Si.Apt, Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp.D.V.E, Subsp.D.K.E, dan Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS selaku penguji I, II, dan III yang bersedia meluangkan banyak waktu untuk memberikan kritik serta saran dalam penulisan tesis.
7. Seluruh tenaga pendidik dan staff administrasi di Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang dan semua pihak yang secara langsung atau tidak langsung telah memberi bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan tesis.
8. Kepada suamiku tersayang Harpan Gemilang dan anak-anak ku Kenziero dan Xagara terimakasih atas dukungan dan pengertiannya selama menyelesaikan penulisan tesis.
9. Kepada ayahandaku Nirfan Jaya, dan Ibundaku Ernawaty, ayahanda Subahi Idris dan Ibunda Alm. Nurhayati Lina terimakasih atas perjuangan dan pengorbanannya dalam membesarkan, mendukung dan mendidik ananda, semoga bisa menjadi amal ibadah di sisi Allah SWT. Amin ya rabbal alamin.

Semarang, Februari 2025



(Yulisa Afriani Ninasara)

ABSTRAK

Latar Belakang: Paparan UVB dapat merusak kulit melalui stres oksidatif, inflamasi, dan apoptosis seluler yang dimediasi oleh peningkatan ROS, TNF- α , dan caspase-3. *Clitoria ternatea* mengandung senyawa bioaktif dengan sifat antioksidan dan antiinflamasi yang berpotensi menekan aktivasi caspase-3 dan mencegah kerusakan sel. Penelitian ini mengevaluasi efek gel ekstrak bunga telang terhadap ekspresi TNF- α dan caspase-3 pada kulit tikus Wistar yang terpapar UVB.

Metode: Penelitian eksperimental ini menggunakan desain post-test only control group dengan rancangan acak lengkap, melibatkan tikus jantan galur Wistar yang dibagi dalam empat kelompok perlakuan (K1–K4). Gel ekstrak *Clitoria ternatea* L. diberikan secara topikal satu kali sehari selama 7 hari, diikuti paparan UV-B (160 mJ/cm²) selama $\pm$ 15 menit per hari. Setelah 24 jam pasca perlakuan terakhir, sampel jaringan kulit diambil menggunakan biopsi punch 6 mm. Ekspresi TNF- α dan Caspase-3 dianalisis dengan qRT-PCR, dan data diuji menggunakan ANOVA.

Hasil: Pengukuran ekspresi TNF- α K1 $0,85 \pm 0,15$, K2 $0,78 \pm 0,32$, K3 $0,35 \pm 0,20$ dan K4 $0,54 \pm 0,30$. Uji ANOVA diperoleh p 0,024 ($p < 0,05$) terdapat perbedaan signifikan diantara semua kelompok perlakuan terhadap ekspresi TNF- α . Ekspresi Caspase-3 K1 $0,83 \pm 0,11$, K2 $0,89 \pm 0,38$, K3 $0,16 \pm 0,32$ dan K4 $1,52 \pm 0,50$. Uji ANOVA diperoleh p 0,005 ($p < 0,05$) terdapat perbedaan signifikan antar semua kelompok perlakuan terhadap ekspresi caspase 3.

Kesimpulan: Gel *Clitoria ternatea* 5% efektif menurunkan ekspresi TNF- α dan meningkatkan ekspresi Caspase-3 pada kulit terpapar UV-B, sedangkan dosis 10% tidak menunjukkan efek signifikan. Konsentrasi 5% dinilai optimal untuk efek antiinflamasi dan regenerasi kulit.

Kata Kunci: Gel ekstrak *Clitoria ternatea*, ekspresi TNF- α dan Caspase-3, Paparan UVB akut

ABSTRACT

Background: UVB exposure can damage the skin through oxidative stress, inflammation, and cellular apoptosis mediated by increased ROS, TNF- α , and caspase-3. *Clitoria ternatea* contains bioactive compounds with antioxidant and anti-inflammatory properties that have the potential to suppress caspase-3 activation and prevent cell damage. This study evaluated the effect of butterfly pea flower extract gel on TNF- α and caspase-3 expression in the skin of Wistar rats exposed to UVB.

Methods: This experimental study used a post-test only control group design with a completely randomized design, involving male Wistar rats divided into four treatment groups (K1–K4). *Clitoria ternatea* L. extract gel was applied topically once a day for 7 days, followed by UV-B exposure (160 mJ/cm²) for ± 15 minutes per day. After 24 hours after the last treatment, skin tissue samples were taken using a 6 mm punch biopsy. TNF- α and Caspase-3 expression were analyzed by qRT-PCR, and data were tested using ANOVA.

Results: Measurement of TNF- α expression K1 0.85 ± 0.15 , K2 0.78 ± 0.32 , K3 0.35 ± 0.20 and K4 0.54 ± 0.30 . ANOVA test obtained $p = 0.024$ ($p < 0.05$) there was a significant difference between all treatment groups on TNF- α expression. Caspase-3 expression K1 0.83 ± 0.11 , K2 0.89 ± 0.38 , K3 0.16 ± 0.32 and K4 1.52 ± 0.50 . ANOVA test obtained $p = 0.005$ ($p < 0.05$) there was a significant difference between all treatment groups on caspase 3 expression.

Conclusion: *Clitoria ternatea* gel 5% effectively decreased TNF- α expression and increased Caspase-3 expression in UV-B exposed skin, while 10% dose did not show significant effects. The 5% concentration is considered optimal for anti-inflammatory and skin regeneration effects.

Keywords: *Clitoria ternatea* extract gel, TNF- α and Caspase-3 expression, Acute UVB exposure

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
TESIS	ii
RIWAYAT HIDUP	iii
PERNYATAAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR SINGKATAN	xiv
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Penelitian	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	5

1.4.2. Manfaat Praktik.....	5
1.5. Originalitas Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1. Tumor Necrosis Factor (TNF- α)	9
2.1.1. Definisi Tumor Necrosis Factor (TNF- α)	9
2.1.2. Faktor yang mempengaruhi peningkatan TNF- α	10
2.1.3. Mekanisme Ekspresi TNF- α melalui Inflamasi Steril	12
2.2. CASPASE – 3	14
2.3. Anatomi Histologi Kulit	15
2.3.1. Definisi	15
2.3.2. Struktur Kulit.....	16
2.3.3. Epidermis.....	17
2.4. Ultraviolet B (UVB)	20
2.5. <i>Clitoria ternatea</i> L	21
2.5.1. Definisi	21
2.5.2. Taksonomi.....	21
2.5.3. Manfaat dan kandungan kimia.....	23
2.6. Pengaruh gel ekstrak <i>Clitoria ternatea</i> l terhadap ekspresi TNF- α dan Caspase 3 pada jaringan kulit tikus yang dipapar UVB.....	25
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	29
3.1. Kerangka Teori	29
3.2. Kerangka Konsep	33

3.3.	Hipotesis	33
BAB IV METODE PENELITIAN		34
4.1.	Jenis Penelitian dan rancangan penelitian	34
4.2.	Variabel Penelitian	35
4.2.1.	Variabel bebas.....	35
4.2.2.	Variabel Tergantung	35
4.3.	Subyek penelitian dan Definisi Operasional	35
4.3.1.	Subyek Penelitian	35
4.3.2.	Definisi Operasional	35
4.4.	Teknik Pengambilan Sampel Penelitian	36
4.4.1.	Kriteria Inklusi.....	36
4.4.2.	Kriteria <i>Drop Out</i>	37
4.5.	Besar Sampel	37
4.6.	Alat dan bahan.....	37
4.6.1.	Alat.....	37
4.6.2.	Bahan	38
4.7.	Cara Penelitian.....	38
4.7.1.	Perolehan <i>Ethical Clearance</i>	38
4.7.2.	Cara Pembuatan Ekstrak Bunga Telang	38
4.7.3.	Cara Pembuatan Gel Ekstrak Bunga Telang	39
4.7.3.	Penyinaran UVB dan Pemberian Perlakuan pada Subjek Percobaan	

4.7.4. Pengambilan Sampel Jaringan.....	40
4.7.5. Ekstraksi DNA dan Analisis PCR	41
4.7.6. Analisis Ekspresi TNF- α dan Caspase 3	42
4.8. Tempat dan Waktu Penelitian.....	43
4.9. Analisa Data	43
4.10. Alur Penelitian.....	44
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	45
5.1. Hasil Penelitian.....	45
5.1.1. Hasil analisis ekspresi TNF- α jaringan kulit pada tiap kelompok..	45
5.1.2. Hasil analisis ekspresi caspase 3 jaringan kulit pada tiap kelompok	48
5.2. Pembahasan.....	51
BAB VI KESIMPULAN	57
6.1. Kesimpulan.....	57
6.2. Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA	59
Lampiran	63
1. Surat izin etik penelitian	63
2. Surat keterangan hasil penelitian.....	64
3. Dokumentasi penelitian	66
4. Lampiran statistik EKSPRESI TNF- α dan Caspase3 menggunakan SPSS	69

DAFTAR SINGKATAN



APP	: <i>Acute phase protein</i>
CPS	: <i>Cerebro spinal fluid</i>
DAG	: <i>Diacylglycerol</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
eNOS	: <i>Endothelial nitric oxide synthase</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
GF	: <i>Growth factor</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IGF-1	: <i>Insulin growth factor 1</i>
IFN- γ	: <i>Interferon-γ</i>
MMP	: <i>Matriks metaloproteinase</i>
MAPK	: <i>Mitogen activated protein kinase</i>
NO	: <i>Nitrit oksida</i>
Nrf2	: <i>Nuclear Respiration Factor 2</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear factor kappa B</i>
PKC3	: <i>Protein kinase C-3</i>
PCR	: <i>Polymerase chain reaction</i>
PDGF	: <i>Platelet derived growth factor</i>
PAMPs	: <i>Pathog en associated molecular patterns</i>
PRRs	: <i>Pattern recognition receptors</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
TGF- β	: <i>Transforming growth factor-β</i>
TIMP	: <i>Tissue Inhibitor Metalloproteinase</i>
TNF	: <i>Tumor necrosis factor</i>
TLRs	: <i>Toll-like receptors</i>
UV-B	: <i>Ultraviolet B</i>

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian	5.
Tabel 5.1. Hasil deskripsi rerata ekspresi TNF- α dan uji <i>One way anova</i>	45.
Tabel 5.2. Uji <i>Post Hoc LSD</i> ekspresi TNF- α	46.
Tabel 5.3. Hasil deskripsi rerata ekspresi caspase 3 dan uji <i>One way anova</i>	49.
Tabel 5.4. Uji <i>Post Hoc LSD</i> ekspresi TNF- α	50.



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Lapisan Kulit	16.
Gambar 2.2. Lapisan Epidermis.....	18.
Gambar 2.3. <i>Clitorea ternatea</i>	21.
Gambar 3.1. Kerangka Teori.....	32.
Gambar 3.2. Kerangka Konsep	33.
Gambar 4.1. Alur Rancangan Penelitian	34.
Gambar 4.2. Alur Penelitian.....	44.



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Paparan sinar ultraviolet B (UVB) akut tidak hanya menyebabkan eritema tetapi juga memicu berbagai efek negatif pada kulit, termasuk stres oksidatif, kerusakan DNA, inflamasi, hingga apoptosis seluler.¹ Peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) sebagai pemicu peradangan menyebabkan leukosit tipe neutrofil mengeluarkan protease dan sitokin pro-inflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α).¹ TNF- α menyebabkan apoptosis dengan mengaktifkan caspase-3 yang kemudian mendegradasi protein-protein yang ada.² Bunga telang (*Clitoria ternatea*) dengan kandungan bioaktifnya mampu menginterferensi jalur yang dipicu oleh TNF- α untuk mengurangi aktivasi Caspase-3, sehingga mencegah degradasi protein dan kerusakan sel yang berlebihan.^{3,4} Ekstrak bunga telang kaya akan antosianin, flavonoid, dan senyawa fenolik dengan sifat antioksidan dan antiinflamasi.⁵

Peluang inovasi dalam pengembangan sediaan gel berbasis bahan alami sebagai alternatif yang lebih aman, ekonomis, dan ramah lingkungan dibandingkan produk sintetis, dengan fokus pada efek gel terhadap ekspresi TNF- α dan Caspase-3, sekaligus membuka jalan bagi inovasi dalam terapi dermatologis berbasis herbal.⁶ penelitian sebelumnya menegaskan urgensi ilmiah studi ini, menggunakan ekstrak gel bunga telang secara signifikan mengurangi produksi TNF- α dan caspase-3 yang diinduksi UVB pada tikus

selama 14 hari.⁷ Fokus penelitian ini pada efek gel bunga telang terhadap ekspresi TNF- α dan Caspase-3, yang akan dilakukan selama 7 hari. Studi ini semakin menegaskan urgensi ilmiahnya, sekaligus membuka jalan bagi inovasi dalam terapi dermatologis berbasis herbal.⁶

Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α) merupakan sitokin yang memiliki efek pleiotropik pada berbagai tipe sel. TNF- α telah diidentifikasi sebagai pengatur utama respon inflamasi dan diketahui terlibat dalam patogenesis beberapa penyakit inflamasi dan autoimun. Secara struktural, TNF- α merupakan protein homotrimer yang terdiri dari 157 asam amino, terutama dihasilkan oleh makrofag teraktivasi, limfosit T. Secara fungsional diketahui memicu serangkaian berbagai molekul inflamasi, termasuk sitokin dan kemokin lainnya. TNF- α ada dalam bentuk larut dan transmembrane.⁸ TNF- α dapat memicu apoptosis dengan mengaktifkan caspase-3 yang kemudian mendegradasi protein-protein yang ada. Caspase-3 adalah kelas caspase eksekutor yang diaktifkan oleh caspase inisiator, misalnya caspase-8 dan caspase-9. Aktivasi apoptosis pada jalur ekstrinsik dan intrinsik akan berujung pada aktivasi caspase-3 sebagai caspase pelaksana. Jika caspase-3 telah diaktifkan, proses apoptosis akan terjadi.²

Produksi ROS yang berlebihan meningkatkan peradangan yang ditandai dengan pelepasan berbagai molekul proinflamasi, seperti TNF- α . Iradiasi UV mengubah kolagen dermal melalui jalur pemecahan kolagen (matrix metalloproteinase protein [MMPs]), dan dengan menghambat proses inflamasi. Jalur sintesis prokolagen yang mengakibatkan hilangnya

kandungan kolagen. ROS yang diinduksi UV merusak DNA, dan menginduksi peroksidasi lipid dan degradasi protein dalam sel kulit. Selain itu, ROS mengurangi aktivitas enzim antioksidan di kulit, termasuk superoksida dismutase dan glutathione peroksidase. Produksi TNF- α yang berkepanjangan menginduksi ROS yang menyebabkan kerusakan oksidatif pada DNA melalui jalur NADPH-oksidase 1,5 sehingga mengaktifkan gen p53, yang mengarah pada ekspresi caspase-3 dan memicu apoptosis pada sel kulit, termasuk fibroblast.⁷

Senyawa fenolik, asam askorbat dan karotenoid, yang berasal dari spesies tumbuhan, mampu melindungi kulit dengan mencegah penetrasi sinar UV, mengurangi peradangan dan stres oksidatif.⁹ Pada saat ini banyak dikembangkan bahan-bahan alam untuk penyembuhan luka yang lebih cepat dan efektif satunya Bunga telang.¹⁰

Clitoria ternatea merupakan tumbuhan dengan banyak kandungan nutrisi dan dikenal sebagai tanaman obat di berbagai belahan dunia.¹¹ Semua bagian tumbuhan termasuk akar, biji dan daun, digunakan sebagai obat dan diakui memiliki berbagai efek seperti efek dalam menurunkan inflamasi.^{12,13}

Bagian mahkota bunga telang merupakan sumber antosianin dan berbagai macam jenis flavonoid yang memiliki efek antioksidan, antosianin merupakan antioksidan kuat yang dapat menurunkan ROS yang dapat diberikan secara topikal atau pun oral.¹⁴

Penelitian terkini melaporkan bahwa krim ekstrak bunga telang mempunyai kadar antioksidan tinggi yang mampu menghambat produksi

ROS dan menurunkan kondisi inflamasi sehingga dapat menghambat peningkatan MMP, mencegah apoptosis sel fibroblast serta menghambat penurunan kolagen.^{15,16} Penelitian lainnya juga melaporkan penggunaan gel ekstrak *Clitoria ternatea* L 5% terbukti dapat menghambat peningkatan ekspresi MMP-1 pada kulit tikus Wistar yang terpapar sinar UV-B.¹⁷

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, sehingga menjadi dasar pemilihan dosis Gel Ekstrak Bunga Telang 5%, kemudian ditambahkan variasi dosis 10% untuk melihat pengaruh terhadap ekspresi TNF- α dan Caspase-3 pada kulit yang terpapar sinar UV-B

1.2. Rumusan Penelitian

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah tersebut di atas, maka rumusan masalah yang dikemukakan dalam penelitian ini adalah :

Apakah pemberian gel ekstrak *Clitoria ternatea* berpengaruh terhadap ekspresi TNF- α dan Caspase-3 pada kulit yang terpapar sinar UV-B akut ?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak *Clitoria ternatea* terhadap ekspresi TNF- α dan Caspase-3 pada kulit yang terpapar sinar UV-B akut.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Untuk membuktikan pengaruh pemberian gel ekstrak *Clitoria ternatea* 5% secara topikal terhadap ekspresi TNF- α dan Caspase-3 pada tikus wistar yang dipapar sinar UV-B dibandingkan kontrol.

2. Untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak gel *Clitoria ternatea* 10 % dan 10% secara topikal terhadap ekspresi TNF- α dan Caspase-3 pada tikus wistar yang dipapar sinar UV-B dibanding kontrol.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Manfaat teoritis yang terdapat dari penelitian ini adalah adanya informasi pengaruh pemberian gel ekstrak *Clitoria ternatea* pada kulit akibat paparan sinar UV-B dengan peningkatan Ekspresi TNF- α dan ekspresi Caspase-3.

1.4.2. Manfaat Praktik

Penggunaan bunga telang sebagai bahan alami dalam perawatan kulit lebih aman dibandingkan bahan kimia sintetis, mengurangi risiko iritasi dan efek samping toksik. Selain itu, bunga telang merupakan tanaman yang mudah dibudidayakan, sehingga dapat menjadi alternatif ramah lingkungan bagi industri farmasi dan kosmetik.

1.5. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

No	Peneliti, tahun	Judul	Metode Penelitian	Hasil
1	Nurul Huda, 2023	Uji efektivitas sediaan salep ekstrak bunga telang (<i>Clitoria ternatea</i> L.) dengan basis hidrokarbon	In Vitro Eksperimen	Analisis fitokimia pada bunga telang memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan polifenol. Ekstrak <i>Clitoria ternatea</i> L diformulasikan menjadi sediaan salep dan memenuhi

		terhadap luka bakar pada tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)		persyaratan uji evaluasi fisik dalam konsentrasi 10%. Sediaan salep ekstrak bunga telang (<i>Clitoria ternatea L.</i>) dengan basis hidrokarbon memiliki aktivitas untuk penyembuhan luka bakar pada tikus, dilihat dari nilai ($p \leq 0,05$) yang mengalami kesembuhan pada hari ke delapan.
2	Nia Boru Ritonga, Rini and Tuty Anggraini, 2020	<i>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 (Pandanumusa paradisiaca, L)</i>	In Vitro, Eksperi mental	Penambahan ekstrak bunga telang terbukti aman untuk jenis kulit normal dan memberikan efek perlindungan sinar matahari, dengan nilai SPF yang relatif tinggi.
3	Li Hsien Chen, I Chia Chen, Pei Yen Chen, Ping Hsin Huang, 2018	<i>Application of Butterfly Pea Flower Extract in Mask Development</i>	In Vitro, Eksperi mental	Ekstrak bunga telang organik tidak menyebabkan kulit kemerahan, gatal, alergi/iritasi tetapi juga meningkatkan retensi kelembaban dan memiliki efek memutihkan, dan efek ini meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasinya. Hasilnya, larutan fermentasi bunga telang dapat ditambahkan ke formula kosmetik sebagai bahan baku alami produk perawatan kulit.
4	Cahyani E, Putra A, Subchan P. 2023	<i>Potential Use of the Gel Extract of Butterfly Pea Flower as Topical Therapy to Prevent</i>	In Vivo, Eksperi mental	Tingkat ekspresi TNF- α dan caspase-3 menurun pada kelompok perlakuan, dan dosis ekstrak yang lebih tinggi memberikan efek yang lebih besar. Ekstrak gel

	<i>Photodamage by Downregulating TNF-α and Caspase-3 Expression Levels in UVB-Exposed Rats.</i>		secara signifikan mengurangi produksi TNF- α dan caspase-3 yang diinduksi UVB pada tikus. ⁷
Amalia RI, Prastiya W, Meirawati N, Hirawan H. 2024	<i>Effectiveness of Mucoadhesive Patch Clitoria Ternatea Extract in Wound Healing Process After Tooth Extraction in Sprague Dawley Rats</i> <i>Effectiveness of Mucoadhesive Patch Clitoria Ternatea Extract in Wound Healing Process After Tooth Extraction in Sprague D.</i>	In Vivo, Eksperi mental	<i>Mucoadhesive patch clitoria ternatea</i> (MPCT) 15% yang diaplikasikan selama 14 hari menunjukkan jumlah fibroblas, kepadatan kolagen, dan ketebalan epitel tertinggi di antara semua kelompok dan berbeda secara signifikan dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif ($p < 0,05$). Ekstrak bunga <i>Clitoria ternatea</i> efektif terhadap proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi, dengan konsentrasi paling efektif yaitu 15%. ¹⁸

Berdasarkan tabel 1.1. terdapat beberapa penelitian dari yang terdahulu mengenai manfaat *Clitoria ternatea*, Nurul Huda, 2023 melaporkan bahwa Sediaan salep ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) dengan basis hidrokarbon memiliki aktivitas untuk penyembuhan luka bakar pada tikus, dilihat dari nilai ($p \leq 0,05$) yang mengalami kesembuhan pada hari ke delapan, sementara Ritonga *et al* melakukan penelitian untuk mengetahui formulasi terbaik berupa penambahan ekstrak bunga telang dan ekstrak daun pandan pada lotion kulit VCO untuk melindungi dari sinar matahari, serta mengetahui

karakteristik fisik dan kimia lotion kulit dengan menggunakan metode eksploratif dengan 2 perlakuan dan 3 ulangan. Pada penelitian yang dilakukan Chen et al, 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 kulit, tetapi juga memiliki sifat antioksidan, meningkatkan kelembaban dan efek memutihkan, dan hasilnya meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi.

Penelitian-penelitian tersebut berbeda dengan penelitian kami dimana penelitian kami menggunakan gel ekstrak *Clitoria ternatea* yang kaya akan senyawa bioaktif seperti antosianin, flavonoid, dan antioksidan, yang telah terbukti memiliki efek antiinflamasi dan antiradikal bebas. Penggunaan gel berbahan ekstrak bunga telang berpotensi melindungi kulit dari efek berbahaya UVB dengan menekan ekspresi TNF- α dan Caspase-3. Analisis menggunakan metode RT-PCR memungkinkan pengamatan yang akurat terhadap perubahan ekspresi gen ini pada tingkat molekuler, memberikan bukti ilmiah yang kuat mengenai efektivitas bahan alami tersebut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Tumor Necrosis Factor* (TNF- α)

2.1.1. Definisi *Tumor Necrosis Factor* (TNF- α)

Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α) merupakan salah satu jenis sitokin yang memiliki efek antimikroba pada berbagai jenis sel. TNF- α telah diidentifikasi sebagai pengatur utama respons inflamasi dalam imunitas *innate* dan adaptif serta proliferasi dan apoptosis sel. TNF- α merupakan protein homotrimer yang mencakup 157 asam amino yang diproduksi oleh berbagai macam sel, termasuk sel *natural killer* (NK), makrofag aktif, limfosit T, adiposit, monosit, dan fibroblas, serta menjadi sitokin pertama yang muncul dalam beberapa menit setelah cedera atau stress akibat respons inflamasi. TNF- α terdapat dalam dua bentuk, bentuk larut (sTNF- α) dan transmembran (tmTNF- α). Aktivitas kedua bentuk TNF- α ini diperantarai oleh dua reseptor, *Tumor Necrosis Factor type I* (TNF-RI) dan *Tumor Necrosis Factor type II* (TNF-RII), yang keduanya terdapat pada semua membran sel kecuali eritrosit. Kedua reseptor ini memiliki perbedaan dalam afinitas pengikatan dan jalur persinyalan intraselulernya. Setelah terjadi stimulasi, kompleks TNF-RI berikatan dengan protein TNF *receptor-associated death domain* (TRADD). Ikatan ini tidak hanya dapat menginduksi inflamasi, proliferasi sel, dan pertahanan host terhadap patogen, tetapi juga dapat mengaktivasi domain kematian, seperti apoptosis dan nekroptosis. Hal ini sedikit berbeda dengan TNF-RII yang tidak bisa

mengaktifkan domain kematian setelah berikatan dengan protein TNF *receptor-associated factor* (TRAF).⁸

2.1.2. Faktor yang mempengaruhi peningkatan TNF- α

Ekspresi TNF- α dalam jaringan kulit dipengaruhi oleh paparan UVB, stres oksidatif, aktivasi jalur pensinyalan NF- κ B, inflammasome, aktivasi sel imun, ketidakseimbangan sitokin, cedera jaringan, serta penyakit inflamasi kronis. Peningkatan TNF- α yang tidak terkendali dapat menyebabkan inflamasi berlebihan, kerusakan jaringan, apoptosis sel, dan fibrosis. Oleh karena itu, strategi untuk menghambat ekspresi TNF- α , seperti penggunaan antioksidan, inhibitor NF- κ B, atau terapi anti-TNF, dapat menjadi solusi untuk mengatasi berbagai penyakit kulit inflamasi.

Ekspresi TNF- α dalam jaringan kulit meningkat akibat berbagai faktor, terutama paparan sinar UVB, stres oksidatif, dan aktivasi sel imun. UVB memicu kerusakan DNA, meningkatkan produksi radikal bebas (ROS), serta mengaktifkan jalur pensinyalan NF- κ B dan inflammasome NLRP3, yang semuanya berkontribusi pada peningkatan TNF- α . Selain itu, sel imun seperti makrofag M1, keratinosit, dan sel mast juga melepaskan TNF- α sebagai respons terhadap infeksi, luka, atau peradangan. Ketidakseimbangan sitokin proinflamasi dan antiinflamasi, serta kondisi inflamasi kronis seperti psoriasis dan dermatitis atopik, semakin memperparah ekspresi TNF- α , menyebabkan inflamasi berkepanjangan dan kerusakan jaringan kulit.^{19,20}

Ekspresi TNF- α dalam jaringan kulit dipengaruhi oleh berbagai faktor spesifik, termasuk faktor genetik, epigenetik, lingkungan, serta kondisi

fisiologis dan patologis. Secara genetik, polimorfisme gen TNF- α , seperti varian -308G/A dan -238G/A, dapat meningkatkan ekspresi TNF- α dan dikaitkan dengan penyakit inflamasi seperti psoriasis dan rheumatoid arthritis. Selain itu, mutasi dalam gen yang mengatur jalur pensinyalan NF- κ B seperti NFKB1, RELA, dan IKBKB juga dapat menyebabkan hiperaktivasi TNF- α . Regulasi epigenetik juga berperan dalam ekspresi TNF- α , di mana metilasi DNA dapat menekan ekspresinya, sementara asetilasi histon dapat memperkuatnya. Molekul kecil microRNA (miRNA), seperti miR-125b, juga dapat menekan TNF- α dengan menghambat translasi mRNA-nya. Dari faktor lingkungan, paparan sinar UVB meningkatkan produksi radikal bebas (ROS) yang mengaktifkan jalur NF- κ B dan inflammasome NLRP3, sehingga meningkatkan ekspresi TNF- α . Polusi udara, terutama partikel PM2.5 dan logam berat, juga berkontribusi dengan meningkatkan stres oksidatif dan inflamasi. Selain itu, infeksi bakteri, virus, atau jamur dapat mengaktifkan Toll-Like Receptors (TLRs) pada keratinosit dan sel imun, yang memicu pelepasan TNF- α . Faktor fisiologis dan patologis juga berperan, di mana proses penuaan menyebabkan inflammaging, yakni inflamasi kronis dengan peningkatan TNF- α yang mempercepat penuaan kulit. Penyakit autoimun dan inflamasi kronis, seperti psoriasis, lupus eritematosus sistemik (LES), dan rheumatoid arthritis, menunjukkan peningkatan produksi TNF- α akibat disregulasi sistem imun. Selain itu, obesitas dan resistensi insulin juga berkontribusi terhadap peningkatan ekspresi TNF- α , karena makrofag dalam jaringan adiposa dapat

menghasilkan sitokin ini dalam jumlah besar, memperparah inflamasi sistemik dan memengaruhi kesehatan kulit.²¹

2.1.3. Mekanisme Ekspresi TNF- α melalui Inflamasi Steril

Inflamasi dapat diinduksi oleh sejumlah rangsangan yang berbeda, termasuk infeksi seperti bakteri, virus, jamur, dan parasit, paparan benda asing seperti serpihan atau kotoran, kerusakan jaringan, trauma baik yang tumpul maupun tajam, serta agen fisik dan kimia seperti luka bakar, paparan radiasi, dan dampak toksisitas yang disebabkan oleh zat kimia dalam lingkungan. Rangsangan ini dapat merusak sel-sel tubuh dan menginduksi respons peradangan.²² Respons peradangan ditandai dengan penarikan sel-sel radang, terutama sel-sel imun innate seperti *neutrofil* dan *makrofag*. Sel-sel ini bertugas memfagositosis agen penyebab infeksi dan menghasilkan sitokin dan kemokin tambahan yang dapat menginisiasi aktivasi limfosit dan respons imun adaptif. Inflamasi yang terjadi akibat trauma, cedera iskemia-reperfusi, atau cedera yang diinduksi oleh bahan kimia biasanya terjadi tanpa kehadiran patogen sehingga disebut inflamasi steril. Seperti inflamasi yang diinduksi oleh mikroorganisme, inflamasi steril ditandai dengan adanya neutrofil dan makrofag serta produksi sitokin dan kemokin pro-inflamasi, terutama TNF- α dan IL-1.²³

Inflamasi steril dimulai dengan pengenalan stimulus oleh PRRs (*Pattern Recognition Receptors*) yang mampu mendeteksi molekul dari sel yang rusak seperti asam nukleat, protein, lipid, dan matriks ekstraseluler. PRRs dapat dikelompokkan menjadi lima jenis: TLRs (*Toll-like Receptors*),

RLRs (RIG-1, *Retinoic Acid- Inducible Gene-1, - Like Receptors*), NLRs (*Nod-Like Receptors*), ALRs (AIM2, *Absent In Melanoma 2, - Like Receptors*), dan CLRs (*C-type Lectin Receptors*). Molekul-molekul ini umumnya disebut pola kerusakan molekuler (DAMPs, *Damage-Associated Molecular Patterns*).²⁴

DAMPs dapat dibagi menjadi dua jenis, HMGB1 (*High Mobility Grup Box 1*) dan PRX (*peroxiredoxin*). HMGB1 merupakan sebuah protein nuklir yang mengatur transkripsi gen dalam kondisi normal dan bertindak sebagai sinyal bahaya endogen sebagai respons terhadap kerusakan sel. HMGB1 selanjutnya dilepaskan melalui eksositosis atau piropitosis dari inti sel ke ruang ekstraseluler, baik secara pasif dari sel yang rusak maupun aktif dari sel imun yang diaktifkan. HMGB1 kemudian berikatan dengan TLR2, TLR4, TLR9, dan reseptor untuk produk hasil glikasi lanjut (RAGE, *Receptor for Advanced Glycation Endproducts*), yang diekspresikan di permukaan makrofag, sel otot polos, dan sel endotel. Kompleks ini mengirimkan sinyal seluler untuk mengaktifkan faktor transkripsi pro-inflamasi *mitogen-activated protein kinase* (MAPKs) dan *nuclear factor-κB* (NF-κB). NF-κB yang diaktifkan kemudian bertranslokasi ke inti sel dan berinteraksi dengan DNA sebagai heterodimer p65/p50. Kedua jalur ini dapat meningkatkan ekspresi sitokin pro-inflamasi, termasuk IL-6, IL-1, dan TNF-α, molekul adhesi, serta matriks metalloproteinase (MMPs). HMGB1 juga berinteraksi dengan CXCL12/CXCR4 untuk mengaktifkan jalur NF-κB dan menginduksi kemotaksis serta merekrut sel inflamasi.²⁵

2.2. CASPASE – 3

Caspase-3 adalah protein yang relatif kecil yang terdiri dari 2 subunit, subunit 12- dan 17-kDa. Aktivasi *Caspase-3* tergantung pada dimerisasinya menjadi heterotetramer, di mana Cys-285 yang diaktifkan histidin di situs aktif subunit p17 conserved dalam superfamili *Caspase* dan diperlukan untuk aktivitas enzimatis.⁷ Peran *Caspase-3* dalam apoptosis adalah untuk membelah dan mengaktifkan *Caspase-6*, *Caspase-7*, dan *Caspase-9* untuk memecah sel-sel apoptosis sebelum dikeluarkan. Setelah proses ini, protein *Caspase-3* dibelah dan dipecah sendiri oleh *Caspase-8* dan *Caspase-10*.⁷ Pembelahan berurutan dan aktivasi protein ini sangat penting untuk tahap *apoptosis execution*.⁷

Caspase-3 merupakan golongan *caspase* eksekutor yang diaktifkan oleh *caspase* inisiator, misalnya *caspase-8* dan *caspase-9*. Aktivasi apoptosis baik jalur ekstrinsik maupun intrinsik akan berujung pada aktivasi *caspase-3* sebagai *caspase* eksekutor. Apabila *caspase-3* telah teraktivasi maka akan terjadi kematian sel apoptosis.²

Caspase-3 bertanggung jawab terhadap penguraian seluruh atau sebagian protein dari berbagai jenis protein utama seperti *nuclear enzyme poly ADP ribose polymerase* yang mengalami dimerisasi untuk membentuk enzim aktif. *Caspase-3* merupakan mediator apoptosis utama dalam sistem imun dan telah terdeteksi pada penyakit inflamasi. Beberapa studi imunohistokimia telah menemukan adanya peningkatan *caspase-3* yang terlibat dalam proses inflamasi yang dihubungkan dengan destruksi jaringan

pada pasien periodontitis.²⁶ *Caspase-3* diaktifkan di dalam sel jalur ekstrinsik (death ligan) dan intrinsik (mitrokondia).^{26,27}

Caspase eksekutor, zymogen *caspase-3* dalam bentuk tidak aktif. *Caspase-3* teraktivasi oleh caspase inisiator setelah ada sinyal apoptotik. Salah satu sinyal tersebut adalah granzym B yang dapat mengaktivasi *caspase* inisiator pada sel yang menjadi target apoptosis oleh sel T killer (pembunuh). Aktivasi ekstrinsik ini akan memicu rangkaian caspase dari jalur apoptotik di mana caspase-3 berperan penting di dalamnya.²⁸ Adanya zymogen caspase-3 untuk meregulasi aktivitas caspase agar membunuh semua sel.²⁶

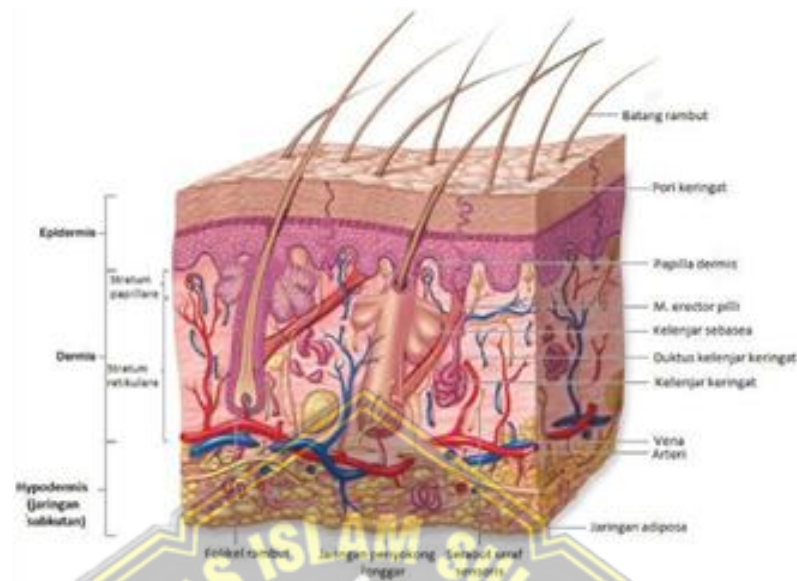
Caspase-3 juga telah terbukti terlibat dalam sejumlah proses yang tidak terkait langsung dengan kematian sel. Aktivasi caspases 3 selama apoptosis memiliki peran penting sebagai regulator negatif dari respon imun dengan memicu pelepasan sitokin anti-inflamasi dan menekan respon inflamasi. Selain peran-peran ini dalam penekanan imun, *caspases* memiliki peran dalam regenerasi jaringan dan proliferasi. Meskipun aktivasi *caspase-3* menyebabkan kematian sel dalam host, telah ditemukan untuk merangsang proliferasi sel di sel disekitar, non-apoptosis.²⁹

2.3. Anatomi Histologi Kulit

2.3.1. Definisi

Kulit merupakan organ tubuh terbesar yang menyumbang sekitar 15% dari total berat badan pada orang dewasa serta melakukan banyak fungsi vital yaitu sebagai pelindung (penyerapan sinar UV, patogen, mekanis), persepsi (sentuhan, suhu, nyeri) dan regulasi

(termal, hidrasi, ekskresi).³⁰



Gambar 2.1. Lapisan Kulit

2.3.2. Struktur Kulit

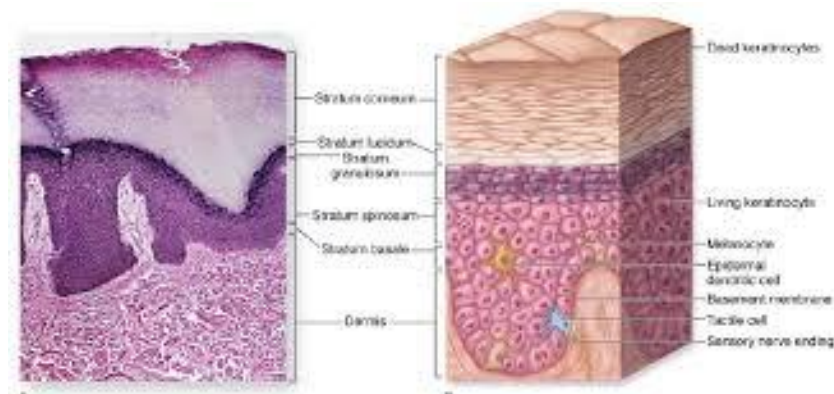
Kulit terdiri dari tiga lapisan utama: epidermis, dermis, dan hipodermis, masing-masing dengan fungsi yang saling melengkapi. Epidermis adalah lapisan terluar yang melindungi tubuh dari mikroorganisme, bahan kimia, dan sinar UV. Lapisan ini terdiri dari beberapa stratum, termasuk stratum korneum sebagai pelindung utama, dan stratum basale yang mengandung melanosit untuk menghasilkan melanin. Di bawahnya, dermis berfungsi sebagai penyokong struktural dengan komponen seperti kolagen, elastin, dan pembuluh darah. Lapisan ini juga menjadi tempat folikel rambut, kelenjar minyak, dan kelenjar keringat.

Hipodermis, atau lapisan subkutan, terletak paling dalam dan terdiri dari jaringan lemak serta jaringan ikat longgar. Lapisan ini berperan

dalam menyimpan energi, memberikan bantalan pelindung, dan membantu mengatur suhu tubuh melalui isolasi termal. Dengan struktur berlapis-lapis, kulit tidak hanya melindungi tubuh dari faktor eksternal tetapi juga mendukung berbagai fungsi fisiologis.³¹⁻³³

2.3.3. Epidermis

Epidermis merupakan lapisan terluar kulit dan tersusun atas epitel berlapis gepeng dengan lapisan tanduk; tidak mempunyai pembuluh darah ataupun limfe sehingga semua nutrisi dan O₂ diperoleh dari kapiler pada lapisan dermis.³⁴ Terdapat empat jenis sel epidermis, yaitu: keratinosit (merupakan sel terbanyak 85-95%, berasal dari ektoderm permukaan, merupakan sel epitel yang mengalami keratinisasi, menghasilkan lapisan kedap air dan perisai pelindung tubuh), melanosit (meliputi 7-10% sel epidermis, berfungsi sebagai tirai penahan radiasi ultraviolet yang berbahaya), sel Langerhans (sel yang berperan dalam respon imun kulit, sel pembawa-antigen yang merangsang reaksi hipersensitivitas tipe lambat pada kulit), dan sel Merkel (merupakan mekanoreseptor atau reseptor rasa sentuh).³¹⁻³⁴



Gambar 2.2. Lapisan Epidermis

Epidermis adalah epitel skuamosa berlapis yang mengandung 5 lapisan tergantung pada lokasinya.³¹⁻³⁴

1. *Stratum Basalis* (Lapisan sel basal): Lapisan yang paling dalam dan paling dekat dengan dermis; aktif secara mitosis dan mengandung melanosit (jenis sel yang bertanggung jawab untuk memproduksi melanin), satu baris keratinosit, dan sel induk. Keratinosit dari lapisan ini berkembang dan matang saat mereka melakukan perjalanan ke luar untuk membuat lapisan yang tersisa.
2. *Stratum Spinosum* (lapisan sel prickles): Lapisan ini terdiri atas beberapa lapis sel yang besar-besar berbentuk poligonal dengan inti lonjong; dengan sitoplasmanya kebiruan. Lapisan ini mengkomponenkan sebagian besar epidermis dan mengandung beberapa lapisan sel yang dihubungkan oleh desmosom. Desmosom ini memungkinkan sel untuk tetap terikat erat satu sama lain dan menyerupai "duri" secara arsitektur.
3. *Stratum Granulosum* (lapisan sel granular): Lapisan ini mengandung

beberapa lapisan sel yang mengandung butiran kaya lipid. Di lapisan ini, sel-sel mulai mengabdikan dan kehilangan intinya, saat mereka menjauh dari nutrisi yang terletak di jaringan yang lebih dalam.

4. *Stratum Lucidum*: Lapisan ini dibentuk oleh 2-3 lapisan sel gepeng yang tembus cahaya, dan agak eosinofilik; umumnya hanya ada di kulit tebal telapak kaki dan telapak tangan dan sebagian besar terdiri dari sel-sel yang diabadikan
5. *Stratum Corneum* (lapisan keratin): Lapisan berkeratin ini berfungsi sebagai lapisan pelindung dan merupakan lapisan terluar dari epidermis. Karena keratinisasi dan kandungan lipid, lapisan ini memungkinkan pengaturan kehilangan air dengan mencegah penguapan cairan internal.

2.3.3.1. Dermis

Terdiri dari stratum papilaris dan stratum retikularis, batas antara kedua lapisan tidak tegas, serat antaranya saling menjalin. Lapisan dermis ini tersusun atas jaringan ikat yang sangat kuat, protein fiber elastin dan kolagen yang memberikan keelastisitasan pada kulit; serta terdapat pembuluh darah, saraf, kelenjar-kelenjar, dan folikel rambut. Sel-sel yang terlihat pada jaringan ikat antara lain adalah fibroblast, makrofag, dan sedikit sel adiposa karena lapisan dermis terletak di atas lapisan subkutan.

2.3.3.2. Hipodermis

Sebuah lapisan subkutan di bawah retikularis dermis, berupa jaringan ikat lebih longgar dengan serat kolagen halus terorientasi terutama sejajar terhadap permukaan kulit, dengan beberapa di antaranya menyatu dengan yang dari dermis. Lapisan ini merupakan tempat penyimpanan suatu lemak dalam tubuh; memiliki fungsi untuk melindungi dari suatu benturan benda keras, dapat sebagai penjaga suhu tubuh karena suatu lemak dapat menyimpan panas, dan sebagai sumber energi cadangan.^{34,35}

2.4. Ultraviolet B (UVB)

Radiasi ultraviolet (UV) sinar matahari dibagi menjadi UVA (315–400 nm), UVB (280–315 nm) dan UVC (200–280 nm). Sekitar 90% Sinar UV yang mencapai bumi merupakan UVA, 10% merupakan UVB, sedangkan UVC seluruhnya diserap oleh atmosfer bumi. Berdasarkan kedua UV yang mampu menembus permukaan bumi, UVB merupakan UV yang memiliki energi lebih besar dari UVA, dapat menembus epidermis dan mencapai bagian atas dermis dan dapat menginduksi kerusakan DNA sel-sel kulit dengan meningkatkan konsentrasi ROS.^{36,37} ROS yang diinduksi UV dapat menyebabkan kerusakan DNA, peroksidasi lipid dan degradasi protein pada sel kulit, serta dapat mengurangi aktivitas enzim antioksidan di kulit.^{38,39} Paparan jangka panjang terhadap UVB dapat menyebabkan photoaging yang memfasilitasi penuaan kulit (penurunan kolagen) dan melanogenesis.⁴⁰

2.5. *Clitoria ternatea* L

2.5.1. Definisi

Clitoria ternatea atau yang dikenal sebagai tanaman telang adalah tanaman herba abadi yang termasuk dalam famili *Fabaceae*. Distribusi tanaman ini utamanya berada di daerah tropis karena ia mampu tumbuh dengan baik pada suhu 24-32°C.^{11,41} Tumbuhan ini tidak memerlukan intensitas cahaya yang tinggi untuk tumbuh sehingga mampu tumbuh dengan lebat di bawah naungan seperti di perkebunan karet dan kelapa.



Gambar 2.3. *Clitorea ternatea*

2.5.2. Taksonomi

Dalam hal taksonomi, tanaman telang dikategorikan ke dalam tumbuhan *Leguminosae* atau termasuk famili *Fabaceae* atau yang biasa dikenal kacang-kacangan. Famili *Fabaceae* mempunyai tiga subfamily yang pembagiannya berdasarkan morfologi bunganya, yaitu *Caesalpinioideae*, *Mimosoideae*, dan *Papilionoideae*/*Faboideae*. Klasifikasi lengkap dari tanaman telang sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Magnoliophyta*
 Kelas : *Magnoliopsida*
 Ordo : *Fabales*
 Famili : *Fabaceae*
 Subfamily : *Papilionoideae*
 Genus : *Clitoria*
 Spesies : *Clitoria ternatea* L.
 Sinonim alamiah : *C. pilosula* Benth; *C. bracteata* Poir.; *C. philippensis* Perr.; *T. vulgaris* Kunth.
 Nama lokal : *Butterfly pea, blue pea* (Inggris); kembang telang, bunga telang (Indonesia)⁴¹

Bunga telang dikenal dengan berbagai sebutan di berbagai daerah di Indonesia, mencerminkan keragaman budaya dan bahasa lokal. Di Jawa, bunga ini disebut sebagai *bunga teleng* atau *kembang teleng*, sementara di daerah Sunda dikenal sebagai *bunga kembang biru*. Masyarakat Bali menyebutnya *bunga biru*, begitu pula di Sumatera, di mana bunga ini juga disebut *bunga nasi kerabu*. Di Sulawesi, bunga telang disebut *talang-talangan*, sedangkan di Nusa Tenggara dikenal sebagai *bunga nila* atau *bunga ungu*. Di Kalimantan, bunga ini memiliki nama yang unik, yaitu *bunga kelentit*. Perbedaan penyebutan ini tidak hanya mencerminkan kekayaan bahasa daerah, tetapi juga menunjukkan variasi dalam penggunaan bunga telang, baik dalam tradisi, kuliner, maupun pengobatan

tradisional setempat.

2.5.3. Manfaat dan kandungan kimia

Manfaat bunga telang dalam pengobatan tradisional merupakan hasil dari berbagai komponen bioaktif, tidak hanya dari hasil metabolisme primer dan sekunder, tetapi juga yang bersifat hidrofilik dan lipofilik. Lemak merupakan komponen hasil metabolisme primer utama sebesar 32,9%, disusul karbohidrat sebesar 29,3%, serat kasar sebesar 27,6%, dan protein hanya 4,2%. Komponen bioaktif bunga telang yang diduga dapat bermanfaat dalam pengobatan berasal dari kandungan fitokimianya (hidrofilik), antara lain fenol (flavonoid, asam fenolat, antrakuinon, dan tannin), terpenoid (triterpenoid, saponin tokoferol, dan fitosterol), serta alkaloid dengan kandungan paling dominan adalah antosianin dan flavonol glikosida. Sementara itu, fitosterol dan asam lemak merupakan komponen lipofilik yang paling melimpah dalam bungatelang.⁵

Konsentrasi kandungan bioaktif dalam ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) sangat bervariasi, tergantung pada metode ekstraksi, jenis pelarut, dan kondisi tumbuh tanaman. Kandungan antosianin dalam ekstrak air bunga telang mencapai 10-15 mg/g berat kering bunga, dengan *ternatin* sebagai komponen utama, sedangkan dalam ekstrak etanol, konsentrasi antosianin bisa lebih tinggi, yaitu 30-40 mg/g. Flavonoid dalam ekstrak etanolik bunga telang tercatat sekitar 50-70 mg QE/g ekstrak (*Quercetin Equivalent*), dan dalam

ekstrak metanol mencapai *60-80 mg QE/g*. Saponin dalam akar dan biji bunga telang dapat mencapai 2-5% dari berat kering bahan tanaman, sementara kandungan alkaloid berkisar 1-3%. Konsentrasi tanin dalam ekstrak metanol mencapai *10-20 mg TAE/g ekstrak (Tannic Acid Equivalent)*, dan peptida siklik (*cliotides*) berada dalam kisaran *0,1-0,5 mg/g* berat kering. Asam fenolat dalam ekstrak air dan etanol bunga telang mencapai *20-30 mg GAE/g ekstrak (Gallic Acid Equivalent)*. Konsentrasi tinggi senyawa-senyawa ini menunjukkan potensi besar bunga telang sebagai sumber antioksidan, antiinflamasi, dan agen perawatan kulit yang efektif.

Senyawa flavonoid seperti antosianin yang terkandung dalam Bunga Telang diketahui dapat menekan inflamasi serta hipersensitivitas pada penderita asma dengan menghambat aktivasi NF-kB sehingga berkorelasi terhadap penurunan konsentrasi mediator pro-inflamasi. Senyawa Apigenin yang melimpah terkandung dalam petal Bunga Telang mampu menekan ekspresi gen mediator pro-inflamasi MCP-1. Penelitian terdahulu juga melaporkan adanya kandungan kaempferol dan quercetin pada Bunga Telang yang mampu menekan produksi TNF- α dari makrofag melalui inaktivasi jalur pensinyalan AP-1 dan Nrf-2 serta penghambatan faktor sinyal yang terlibat dalam jalur TLR4. Beberapa turunan kaempferol pada Bunga Telang juga telah terbukti memiliki efek penghambatan pada enzim COX-2 aktivitas yang berperan penting dalam pelepasan

mediator pro- inflamasi seperti PGE2 dan PGD2.

Kandungan beberapa jenis flavonoid dalam Bunga Telang diketahui mampu menghambat jalur NF- κ B, berujung pada penekanan faktor inflamasi termasuk TNF- α . Penurunan factor inflamasi ini akan berkorelasi pada penurunan produksi enzim MMP sehingga degradasi kolagen terhenti. Selain itu Turunnya factor inflamasi TNF- α dapat menurunkan aktivasi *Caspase-3* sehingga proses apoptosis sel kulit, termasuk sel fibroblast, dapat terhenti. Hal ini akan menyebabkan dapat terbentuknya kolagen dan kembalinya kekenyalan serta hilangnya kerutan kulit.⁴²

2.6. Pengaruh gel ekstrak *Clitoria ternatea* l terhadap ekspresi TNF- α dan *Caspase 3* pada jaringan kulit tikus yang dipapar UVB

Paparan sinar UVB pada kulit tikus memicu respons biologis yang kompleks melalui ekspresi TNF- α dan *Caspase-3*, yang berperan dalam peradangan dan apoptosis. UVB menyebabkan kerusakan DNA dan stres oksidatif, menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) yang mengaktifkan jalur inflamasi melalui NF- κ B dan meningkatkan pelepasan sitokin seperti TNF- α dan IL-6. Di sisi lain, UVB juga merusak mitokondria, memicu pelepasan sitokrom c, dan mengaktifasi *Caspase-9* dan *Caspase-3*, yang mengarah pada apoptosis seluler. TNF- α turut mempercepat apoptosis melalui jalur ekstrinsik dengan mengaktifasi *Caspase-8*. Kombinasi peradangan dan apoptosis ini berkontribusi pada kerusakan jaringan kulit akibat paparan UVB.^{7,43}

Clitoria ternatea L merupakan suatu bahan alami yang telah diteliti memiliki kandungan kimia *flavonoid*, *antosianin*, *flavonol glikosida*, *kaempferol glikosida*, *quersetin glikosida*, *mirisetin glikosida terpenoid*, *tannin* dan *steroid*.⁴⁴ Antosianin yang terdapat dalam Bunga telang merupakan antosianin khas yaitu ternatin merupakan antosianin yang memiliki pigmen berwarna biru yang ditemukan dalam kelopak bunga kembang telang.¹² Antosianin merupakan golongan flavonoid yang berpotensi sebagai agen fotoprotektif karena memiliki kemampuan dalam menyerap sinar UV.⁴⁵ serta berperan sebagai antioksidan dan anti-inflamasi.⁴⁶

Melalui aktivitas antioksidan dan antiinflamasi, ekstrak *Clitoria ternatea* L. menurunkan ekspresi TNF- α yang memicu peradangan serta menghambat aktivasi Caspase-3 yang berperan dalam apoptosis. Kombinasi efek ini memberikan perlindungan terhadap kerusakan jaringan kulit akibat paparan UVB, menjadikannya agen potensial dalam pencegahan dan pengobatan kerusakan kulit.

Ekstrak *Clitoria ternatea* L. memiliki potensi antioksidan dan antiinflamasi yang signifikan, terutama dalam menurunkan ekspresi TNF- α dan Caspase-3 yang dipicu oleh paparan sinar UVB. Kandungan bioaktifnya, seperti flavonoid, antosianin, dan senyawa fenolik, berperan sebagai scavenger spesies oksigen reaktif (ROS). Senyawa ini menetralkan ROS yang dihasilkan oleh paparan UVB, mencegah kerusakan DNA, protein, dan lipid. Selain itu, ekstrak ini mengaktifkan faktor transkripsi Nrf2 yang meningkatkan ekspresi enzim antioksidan seperti SOD, katalase, dan GPx,

memperkuat mekanisme detoksifikasi seluler dan melindungi mitokondria dari kerusakan oksidatif.

Flavonoid dalam ekstrak *Clitoria ternatea L.* menghambat aktivasi faktor transkripsi NF- κ B yang berperan dalam meningkatkan ekspresi TNF- α dan sitokin inflamasi lainnya. Penurunan TNF- α tidak hanya mengurangi peradangan tetapi juga memodulasi jalur inflamasi dengan menghambat pelepasan sitokin seperti IL-6 yang dapat memperburuk kerusakan jaringan. Ekstrak ini juga berperan dalam mencegah apoptosis dengan melindungi mitokondria dari kerusakan dan menghambat pelepasan sitokrom c, sehingga mengurangi aktivasi Caspase-3. Kombinasi efek antioksidan dan antiinflamasi ini memberikan perlindungan menyeluruh terhadap kerusakan jaringan kulit akibat paparan UVB, menjadikannya agen potensial dalam terapi peradangan dan kerusakan kulit. Selain itu Antosianin juga diketahui dapat mengaktifkan *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2). Kompleks Nrf2 dan Keap1 yang terikat bersama di dalam sitoplasma, ketika teraktivasi maka Nrf2 akan melepaskan diri melalui ubiquitinasi dari kompleks Keap1 dan mentranslokasi ke dalam nukleus; kemudian Nrf2 akan berikatan dengan ARE (Antioksidan Respons Elemen) untuk mengaktifkan gen antioksidan (transkripsi gen antioksidan) yaitu SOD dan CAT, yang selanjutnya memicu respon antioksidan. Respon antioksidan tersebut berupa mengurangi kadar ROS, yang kemudian akan mengurangi peradangan dengan menghambat aktivitas berlebih Akt, dan mengurangi / memblokir sinyal inflamasi AP-1 dan NF- κ B. Pemblokkan sinyal inflamasi tersebut

dapat mencegah produksi sitokin proinflamasi ($\text{TNF-}\alpha$), serta dapat mengurangi pelepasan Cyt c yang pada akhirnya dapat menghambat protein pemicu apoptosis (inisiator) seperti *Caspase-9* serta protein pelaksana apoptosis (eksekutor) seperti *Caspase-3*.⁴⁷



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

Paparan terhadap radiasi UVB akut atau kronis dapat menyebabkan peradangan kulit.¹ Peradangan dan apoptosis adalah dua peristiwa terkait erat yang diamati pada paparan iradiasi UVB. Jalur pensinyalan MAPK, seperti Akt, JNK, ERK, dan p38 memainkan peran penting dalam respons terhadap generasi ROS yang diinduksi UVB, yang mengarah ke proses inflamasi yang diperantarai AP-1 dan NF- κ B di kulit. Iradiasi UV menginduksi respon sinyal inflamasi melalui aktivasi faktor transkripsi, termasuk AP-1 (c-Fos / c-Jun) dan NF- κ B, yang kemudian akan meningkatkan produksi sitokin inflamasi seperti TNF- α . Protein keluarga AP-1 c-Jun dan faktor transkripsi NF- κ B adalah gen respons UV dominan yang memainkan peran penting dalam proses inflamasi.⁴⁸

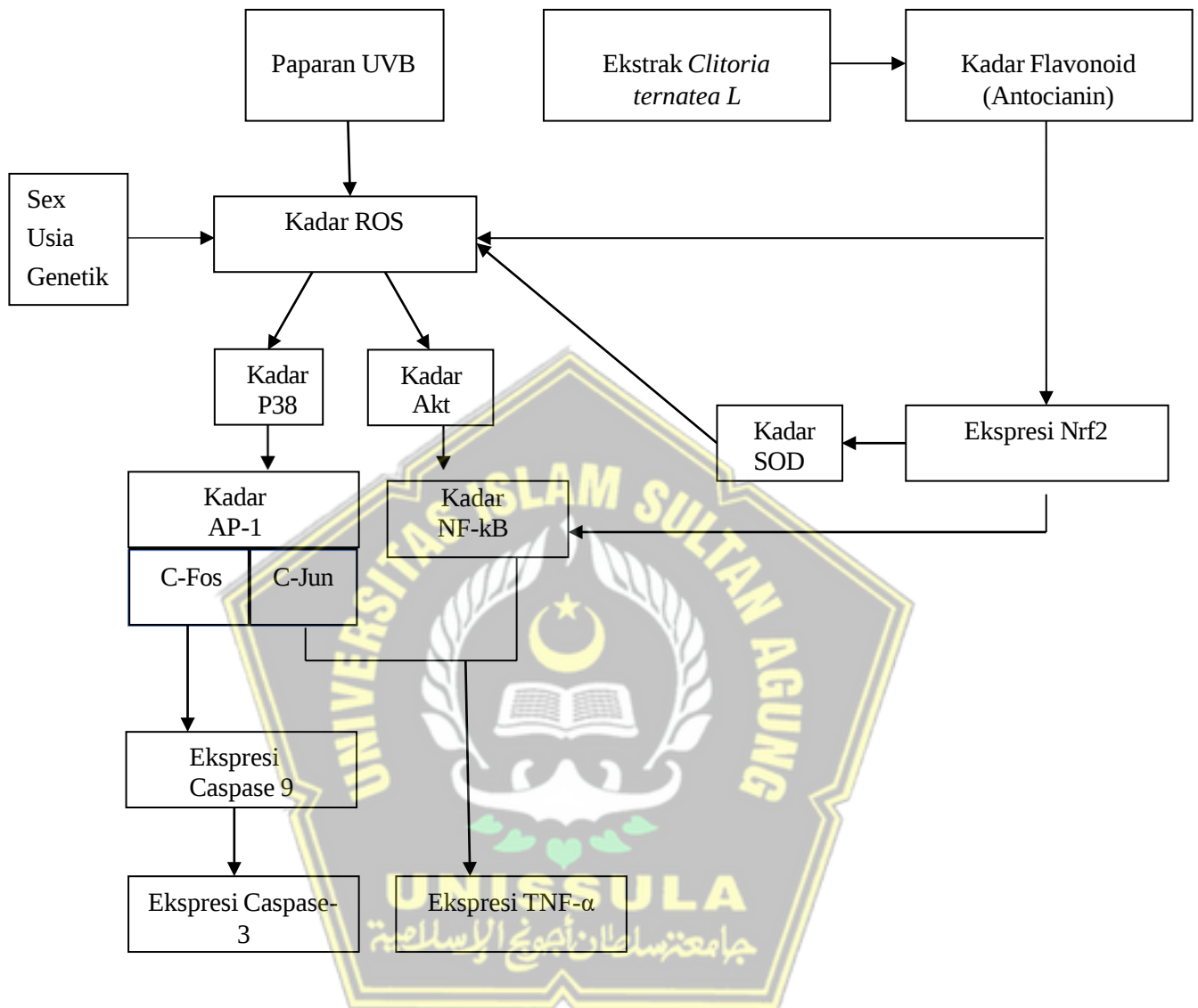
Radiasi UVB, selain menginduksi proses inflamasi juga dapat menginduksi kerusakan DNA, penghentian siklus sel, dan apoptosis. Stres oksidatif akibat paparan UVB menginduksi bentuk-bentuk modul MAPK terfosforilasi yang berlebihan, seperti JNK, p38, dan ERK, yang akan mengarah pada kaskade apoptosis melalui sinyal pro-apoptosis.⁴⁹ Peran p38 dalam respon terhadap ROS yang diinduksi UVB yaitu mempromosikan translokasi Bax dari sitosol ke mitokondria, sehingga menyebabkan pelepasan Cytochrome c (Cyt c) ke sitosol dan mengaktivasi

Caspase-9 (faktor apoptosis inisiator jalur intrinsik), kemudian diikuti dengan aktivasi *Caspase-3* (*Caspase* eksekutor). Proses kematian sel terprogram biasanya ditandai dengan perubahan fisiologis dan morfologis yang bergantung pada tahap apoptosis, dimana pada tahap akhir apoptosis, sel-sel kehilangan integritas membran dan terfragmentasi menjadi badan-badan apoptosis. Jalur intrinsik yang menginduksi apoptosis berasal dari produksi ROS yang berlebihan, yang mengarah ke pelepasan Cyt c dari mitokondria.⁴³ Apoptosis juga dapat terjadi melalui jalur ekstrinsik yang dirangsang melalui pengikatan ligan ke reseptor kematian yang sesuai dan recruitment FADD ke *death receptor* terjadi. FADD berasosiasi dengan procaspase-8 melalui domain efektor kematiannya untuk membentuk multiprotein DISC. Pembentukan DISC memfasilitasi pembelahan dan aktivasi *Caspase-8*.⁵⁰ Jalur ekstrinsik kemudian dapat dilanjutkan melalui jalur pensinyalan tipe I (*Caspase-8* secara langsung memotong dan mengaktifkan *Caspase-3* yang menyebabkan kematian sel) atau jalur pensinyalan tipe II (*Caspase-8* memotong *Caspase-8-cleaved* (BID) untuk mengaktifkan BAK dan BAX, Protein ini kemudian menginduksi pembentukan pore di mitokondria yang mengarah ke aktivasi kaskade *Caspase* dan berpuncak pada aktivasi *Caspase-3*).⁵¹

Sifat antioksidan Bunga Telang menghambat produksi ROS yang diinduksi UVB sehingga dapat melindungi sel kulit dari stres oksidatif dan apoptosis yang diinduksi UVB. Bunga Telang diketahui mengandung beberapa zat aktif seperti Antosianin, flavonol, flavo yang berperan sebagai

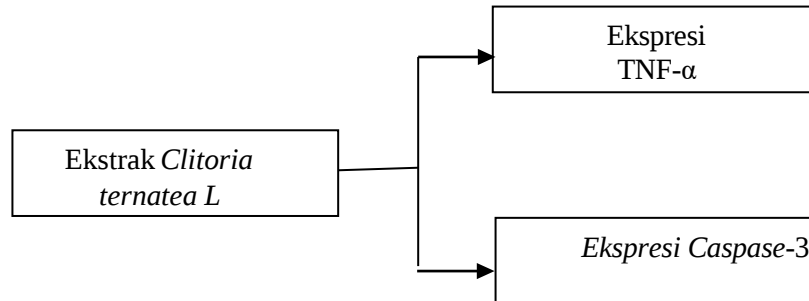
antioksidan dan anti-inflamasi.⁴⁶ Antosianin dapat menghambat produksi ROS pada kulit akibat paparan UVB. Selain itu Antosianin juga diketahui dapat mengaktifkan *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2). Kompleks Nrf2 dan Keap1 yang terikat bersama di dalam sitoplasma, ketika teraktivasi maka Nrf2 akan melepaskan diri melalui ubiquitinasi dari kompleks Keap1 dan mentranslokasi ke dalam nukleus; kemudian Nrf2 akan berikatan dengan ARE untuk mentranskripsikan / mengaktifkan gen antioksidan (SOD dan CAT), yang selanjutnya memicu respon antioksidan. Respon antioksidan tersebut berupa mengurangi kadar ROS, yang kemudian akan mengurangi peradangan dengan menghambat aktivitas berlebih Akt, dan memblokir sinyal inflamasi AP-1 dan NF- κ B. Nrf2 juga merupakan antagonis protein regulator tubuh NF- κ B sehingga dapat menurunkan proses inflamasi dengan menghambat faktor transkripsi NF- κ B.⁵² Pemblokkan sinyal inflamasi tersebut dapat mencegah produksi sitokin proinflamasi (TNF- α), serta dapat mengurangi pelepasan Cyt c yang pada akhirnya dapat menghambat protein pemicu apoptosis (inisiator) protein pelaksana apoptosis (eksekutor) seperti *Caspase-3*.

Ringkasan kerangka teori mengenai mekanisme *Clitoria ternatea* l dalam melindungi sel keratinosit dari stres oksidatif yang diinduksi UVB, peradangan, dan apoptosis diringkaskan dan ditunjukkan pada gambar berikut:



Gambar 3.1. Kerangka Teori

3.2. Kerangka Konsep

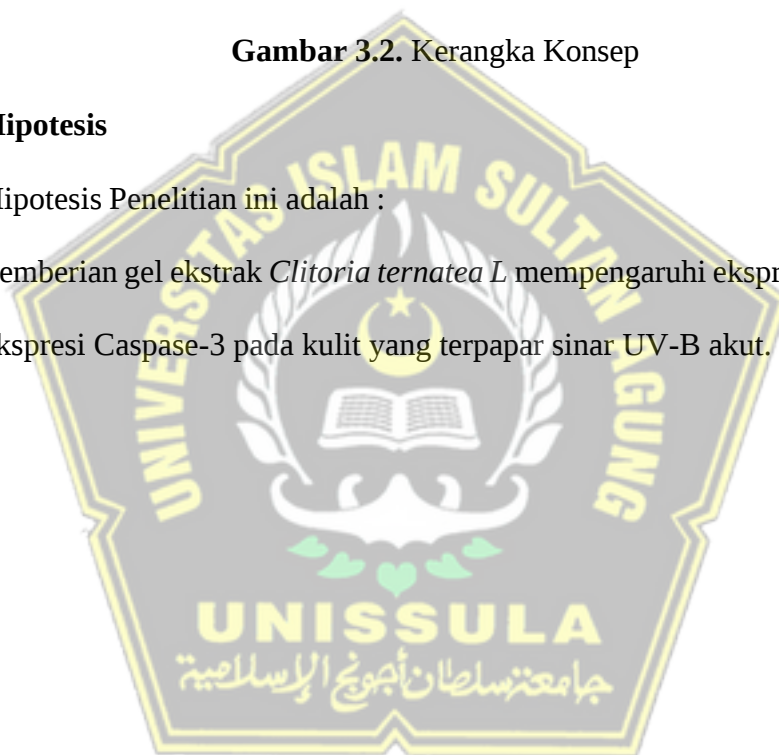


Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

Hipotesis Penelitian ini adalah :

Pemberian gel ekstrak *Clitoria ternatea L* mempengaruhi ekspresi TNF- α dan ekspresi Caspase-3 pada kulit yang terpapar sinar UV-B akut.



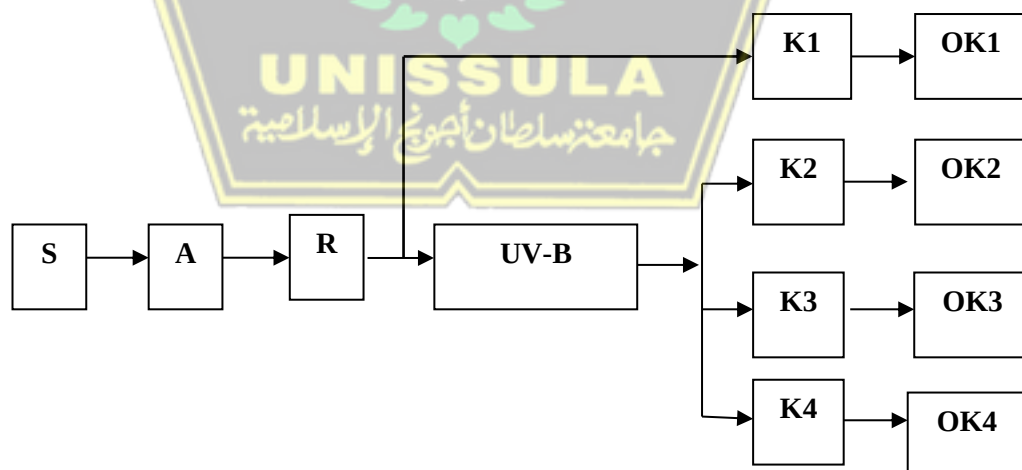
BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan rancangan penelitian

Penelitian eksperimen ini menggunakan desain *post test only control group* dengan metode rancang acak lengkap yang dibagi empat kelompok perlakuan. Subyek penelitian adalah tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*), Perlakuan pada penelitian ini terdiri dari:

1. K1 (Tikus sehat tidak diberi paparan UV-B)
2. K2 (Kontrol, tikus diberikan basis gel dan dipapar UV-B)
3. K3 (Perlakuan1, tikus diberikan gel ekstrak *Clitoria ternatea L* dosis 5% dan dipapar UV-B)
4. K4 (Perlakuan2, tikus diberikan gel ekstrak *Clitoria ternatea L* 10% dan dipapar UV-B).



Gambar 4.1. Alur Rancangan Penelitian

Keterangan

S = Sampel

A = Adaptasi

R = Random

- P = Perlakuan
O = Observasi

4.2. Variabel Penelitian

4.2.1. Variabel bebas

Gel Ekstrak *Clitoria ternatea* L 5% dan 10%

4.2.2. Variabel Tergantung

1. Ekspresi TNF- α
2. Ekspresi Caspase-3

4.3. Subyek penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1. Subyek Penelitian

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang dinyatakan sehat dan layak digunakan untuk penelitian dan dipapar sinar UVB 302 nm yang berjarak 20 cm dengan MED 160 mJ/cm²/hari

4.3.2. Definisi Operasional

1. Gel Ekstrak *Clitoria ternatea* L 5% dan 10% adalah sediaan dalam bentuk gel, yang dibuat dari bunga telang segar, diambil di daerah Ngaliyan Semarang Barat kemudian dikeringkan, lalu diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% sebagai pelarutnya, dibuat gel dengan basis gel dari *propilen glikol*, PVA (*Polivinyll Alcohol*), HPMC (*Hidroksipropil metilselulosa*) *gelling agent* yang merupakan bahan pembentuk gel, propilen glikol, metil paraben, propil paraben, etanol 96%, aquades, dioleskan dipunggung tikus 10mg dan 20mg 1x sehari,

selama 7 hari.

Skala : Ordinal

2. Ekspresi TNF- α banyaknya ekspresi TNF- α pada jaringan kulit tikus jantan galur Wistar diukur menggunakan metode qRT-PCR dan diinterpretasikan hasilnya dengan satuan TNF- α mRNA *relative expression* (x). Diambil pada hari ke 8.

Skala : Rasio

3. Ekspresi *Caspase-3* adalah jumlah ekspresi relatif mRNA *Caspase-3* yang diekspresikan pada jaringan kulit sampel tikus jantan galur Wistar dianalisis menggunakan metode qRT-PCR dan diinterpretasikan hasilnya dengan satuan *Caspase-3* mRNA *relative expression* (x). Diambil pada hari ke 8.

Skala : Rasio

4.4. Teknik Pengambilan Sampel Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan secara acak. Tikus putih jantan galur Wistar dibagi menjadi 4 kelompok yaitu tikus sehat tidak diberi paparan sinar UV-B, tikus dipapar sinar UV-B tanpa diberi ekstrak *Clitoria ternatea L*, tikus diberi paparan UV-B dan diberikan ekstrak *Clitoria ternatea L* 5% dan tikus dipapar sinar UV-B tanpa diberi ekstrak *Clitoria ternatea L*, tikus diberi paparan UV-B dan diberikan ekstrak *Clitoria ternatea L* 10%.

4.4.1. Kriteria Inklusi

1. Tikus putih jantan galur Wistar
2. Berusia 2-3 bulan

3. Berat $\pm$ 200-250 g
4. Kondisi sehat, normal, serta tidak ada kecacatan

4.4.2. Kriteria *Drop Out*

Tampak sakit atau mati selama penelitian

4.5. Besar Sampel

Berdasarkan kriteria yang ditetapkan oleh Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), jumlah minimal sampel yang direkomendasikan untuk setiap kelompok dalam penelitian *in vivo* adalah lima ekor hewan uji. Dalam penelitian ini, digunakan tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) sebagai model hewan coba, dengan total 20 ekor yang dibagi ke dalam empat kelompok perlakuan, masing-masing terdiri dari lima ekor tikus. Untuk mengantisipasi kemungkinan kehilangan subjek selama penelitian akibat faktor seperti kematian, stres, atau kondisi kesehatan yang tidak memungkinkan kelanjutan perlakuan, jumlah sampel dalam setiap kelompok ditingkatkan dengan menambahkan satu ekor tikus. Dengan demikian, total jumlah hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini menjadi 24 ekor. Penambahan ini bertujuan untuk memastikan bahwa setiap kelompok tetap memiliki jumlah sampel yang memadai untuk analisis statistik, sehingga hasil penelitian lebih valid dan dapat diandalkan.

4.6. Alat dan bahan

4.6.1. 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.

4.6.2. 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.

4.7. Cara Penelitian

4.7.1. Perolehan *Ethical Clearance*

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

4.7.2. Cara Pembuatan Ekstrak Bunga Telang

Sebanyak 250 gram bunga telang dicuci hingga bersih dan dikeringkan pada suhu 40°C untuk mengurangi kadar air. Setelah kering, bunga telang digiling menggunakan alat penggilingan hingga menjadi serbuk halus. Serbuk kering tersebut kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak

1000 ml selama tiga hari, dengan pengadukan secara berkala untuk memastikan ekstraksi optimal. Setelah proses maserasi pertama selesai, campuran disaring untuk memisahkan filtrat dari residu. Residu yang tersisa kemudian dimaserasi kembali menggunakan metode yang sama guna memperoleh hasil ekstraksi yang maksimal. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dilakukan penguapan pelarut menggunakan rotary evaporator hingga terbentuk ekstrak kental. Dari proses ini, diperoleh ekstrak kental seberat 40,1 gram, dengan rendemen sebesar 16,04%, yang dihitung berdasarkan perbandingan antara berat ekstrak yang diperoleh dengan jumlah serbuk awal dikalikan 100%. Ekstrak kental yang dihasilkan kemudian disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 2–8°C untuk menjaga stabilitas dan kualitasnya.

4.7.3. Cara Pembuatan Gel Ekstrak Bunga Telang

Pembuatan sediaan gel ekstrak bunga telang dimulai dengan menimbang seluruh bahan yang diperlukan. HPMC seberat 6,5 gram dikembangkan dalam aquadest dengan cara diaduk lalu dibiarkan semalaman hingga mengembang sempurna. Sementara itu, metil paraben 0,02 gram dan tambahan metil paraben 0,18 gram dilarutkan bersama dengan propilen glikol 10 gram, parafin cair 5 gram, serta Tween 80 sebanyak 1,08 gram. Campuran ini kemudian diaduk hingga homogen sebelum ditambahkan ke dalam HPMC yang telah mengembang, lalu diaduk kembali hingga terbentuk basis gel. Untuk

pembuatan sediaan gel ekstrak bunga telang dosis 5%, sebanyak 1 gram ekstrak dicampurkan dengan 19 gram basis gel, menghasilkan total 20 gram sediaan, sedangkan untuk dosis 10%, sebanyak 2 gram ekstrak dicampurkan dengan 18 gram basis gel sehingga menghasilkan total sediaan yang sama, yaitu 20 gram.⁷

4.7.3. Penyinaran UVB dan Pemberian Perlakuan pada Subjek Percobaan

Tikus yang digunakan dalam penelitian ini diadaptasi selama 5 hari setelah tiba di lokasi penelitian. Setelah masa adaptasi, rambut pada bagian punggung tikus dicukur hingga bersih dengan ukuran area 3x4 cm untuk memastikan area aplikasi gel dan paparan UVB merata. Tikus dalam kelompok Perlakuan 1 diberi gel ekstrak bunga telang topikal dengan konsentrasi 5%, sedangkan kelompok Perlakuan 2 diberi gel ekstrak bunga telang topikal dengan konsentrasi 10%. Gel diaplikasikan satu kali sehari selama 7 hari, dan 30 menit setelah pengolesan, punggung tikus dipapar dengan sinar UVB dari jarak 20 cm menggunakan minimal erythema dose (MED) sebesar 160 mJ/cm² selama menit per hari. Paparan ini menyebabkan eritema pada punggung tikus akibat efek kumulatif penyerapan UVB di epidermis. Pada hari ke-8, dilakukan terminasi untuk analisis lebih lanjut.

4.7.4. Pengambilan Sampel Jaringan

Setelah 24 jam pasca pemberian perlakuan terakhir, tikus dimatikan menggunakan metode servikal dislokasi untuk

pengambilan sampel jaringan. Jaringan kulit diambil dengan biopsi punch berukuran 6 mm pada area kulit bagian tengah punggung yang terpapar UVB, kemudian disimpan dalam tabung berisi RNA later dan ditempatkan dalam freezer bersuhu -80°C hingga analisis qRT-PCR dilakukan. Proses isolasi RNA dimulai dengan memotong jaringan kulit seberat 10–30 mg dari masing-masing sampel. Jaringan kemudian dihancurkan menggunakan tissue grinder dalam nitrogen cair dan dipindahkan ke tabung bebas RNase. Selanjutnya, ditambahkan 0,3 mL Binding Buffer 4 (yang telah dicampur dengan β -mercaptoetanol) dan 15 μL proteinase K untuk setiap 10 mg jaringan, kemudian homogenisasi dilakukan dengan vortex. Campuran ini diinkubasi selama 10–20 menit pada suhu 56°C untuk memastikan lisis sel yang optimal. Setelah inkubasi, sampel disentrifugasi dengan kecepatan $12.000 \times g$ selama 5 menit pada suhu kamar, lalu supernatant yang dihasilkan dipindahkan ke tabung bebas RNase yang baru untuk tahap analisis selanjutnya.

4.7.5. Ekstraksi DNA dan Analisis PCR

Proses uji ekspresi gen diawali dengan menyiapkan RNA dari masing-masing sampel serta house-keeping gene (β -actin) sebagai kontrol perbandingan. Selanjutnya, disiapkan master mix dengan komposisi yang mencakup 2x PerfectStart Green One-Step qRT-PCR SuperMix sebanyak 10 μL , forward primer (10 μM) dan reverse primer (10 μM) masing-masing 0,4 μL , TransScript® RT/RI Enzyme

Mix 0,4 μ L, Passive Reference Dye (50x) sebanyak 0,4 μ L, RNA sampel 5 μ L, serta RNase-free Water 3,4 μ L, sehingga total volume dalam setiap reaksi mencapai 20 μ L. Setelah semua komponen tercampur, pastikan tidak ada gelembung udara dalam campuran. Master mix kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing well pada strip tube, dihomogenkan menggunakan vortex, dan dilakukan spindown sebelum PCR dimulai. Program PCR diatur sebagai berikut: tahap reverse transcription pada suhu 50°C selama 5–15 menit (1 siklus), tahap RT dan denaturasi DNA pada suhu 94°C selama 30 detik (1 siklus), diikuti dengan tahap PCR amplifikasi pada suhu 94°C selama 5 detik dan tahap annealing & extension pada suhu 58°C selama 30 detik, yang berlangsung selama 45 siklus. Fluoresensi SYBR Green akan dideteksi pada tahap annealing & extension. Terakhir, sampel dalam strip tube dimasukkan ke dalam alat PCR, dan program dijalankan sesuai waktu yang telah ditentukan untuk memperoleh data ekspresi gen yang diinginkan.

4.7.6. Analisis Ekspresi TNF- α dan Caspase 3

Pastikan kurva amplifikasi menunjukkan pola eksponensial yang konsisten tanpa adanya anomali. Analisis ekspresi gen relatif dilakukan menggunakan metode $\Delta\Delta C_t$, dengan membandingkan nilai C_t sampel eksperimen terhadap housekeeping gene (β -actin) sebagai kontrol internal.

4.8. Tempat dan Waktu Penelitian

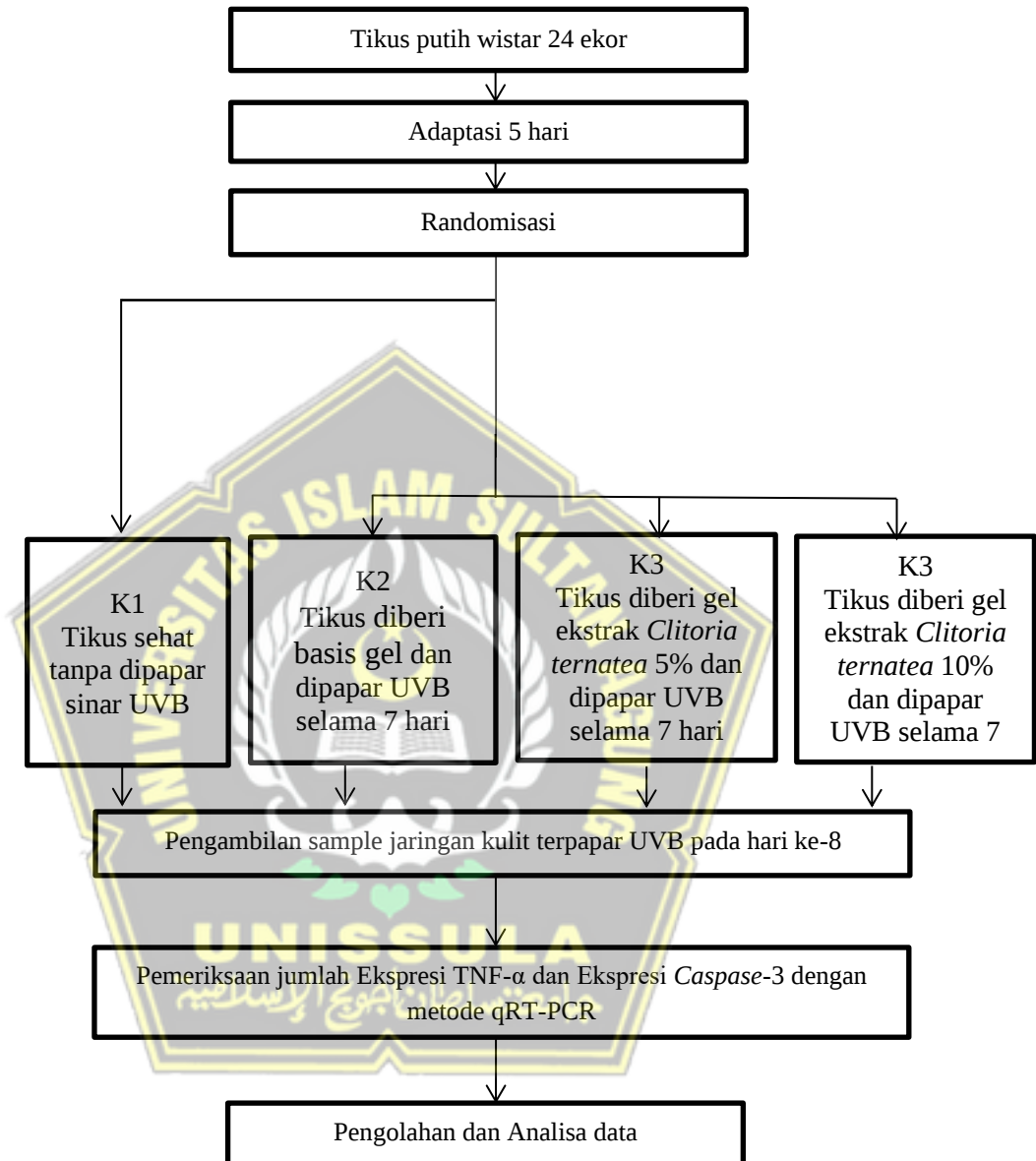
Penelitian dilakukan di Laboratorium Bagian Kimia IBL Unissula, sedangkan perlakuan terhadap hewan coba dilakukan di Laboratorium Hewan Coba IBL Unissula dan analisis sampel jaringan kulit dilakukan di Laboratorium Medis Umum CITO Yogyakarta. Penelitian dilakukan pada Desember 2024-Februari 2025 yang dimulai dari persiapan hingga hasil penelitian.

4.9. Analisa Data

Data hasil analisis ekspresi TNF α dan caspase 3 diuji normalitas dan variasi data dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan *Levene's test*. Hasil data yang dihasilkan normal ($p > 0,05$) dan homogen ($P > 0,05$) untuk ekspresi TNF α , sehingga dilakukan uji *one way anova*. dilanjutkan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar dua kelompok penelitian. Nilai signifikansi $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok penelitian. Hasil rata-rata ekspresi caspase 3 didapatkan normal ($p > 0,05$) tetapi tidak homogen ($p > 0,05$), sehingga dilakukan uji *one way anova*. dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tamhane*. Nilai signifikansi $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok penelitian.

Pengolahan analisis data ini menggunakan aplikasi SPSS series 26.0.

4.10. Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Penelitian

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

5.1.1. Hasil analisis ekspresi TNF- α jaringan kulit pada tiap kelompok

Hasil analisis rata-rata ekspresi TNF- α pada jaringan kulit tikus yang diberikan secara topikal berdasarkan perlakuan tiap kelompok dan setelahnya dipapar sinar UVB akut. Rata-rata ekspresi TNF- α pada kelompok tikus sehat (K1) sebesar $0,85 \pm 0,15$, kelompok tikus yang diberikan basis gel dan dipapar UV-B (K2) sebesar $0,78 \pm 0,32$, kelompok tikus yang diberikan gel ekstrak *Clitoria ternatea* L dosis 5% dan dipapar UV-B (K3) sebesar $0,35 \pm 0,20$, dan kelompok tikus yang diberikan gel ekstrak *Clitoria ternatea* L dosis 10% dan dipapar UV-B (K4) sebesar $0,54 \pm 0,30$, dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1. Hasil deskripsi rerata ekspresi TNF- α (TNF α mRNA *relative expresion* (x) dan uji *One way anova*

Kelompok	K1	K2	K3	K4	P value
Ekspresi TNF- α					
Mean	0,85	0,78	0,35	0,54	
SD	$\pm 0,15$	$\pm 0,32$	$\pm 0,20$	0,30	
Shapiro-Wilk	0,393	0,332	0,062	0,672	
Leuvene Test					0,304
One way anova					0,024

Keterangan: Shapiro-Wilk = Normal ($p > 0,05$)
Leuvene Test = Homogen ($p > 0,05$)
One way anova = Signifikan ($p < 0,05$)

Hasil rata-rata dilakukan uji normalitas data dengan *Shapiro-Wilk* terhadap ekspresi TNF- α yang menunjukkan bahwa semua kelompok berdistribusi normal, dengan nilai $p > 0,05$ pada kelompok K1, K2, K3, dan

K4, sedangkan hasil uji homogenitas dengan *Levene Test* menunjukkan nilai $p=0,304$ ($p>0,05$), yang berarti data memiliki variansi yang homogen. Rata-rata ekspresi TNF- α terdistribusi normal dan variasi data yang homogen sehingga dapat dilakukan uji statistik parametrik *One Way Anova* dengan hasil nilai p 0,024 ($p<0,05$) sehingga dinyatakan terdapat perbedaan signifikan diantara semua kelompok perlakuan terhadap ekspresi TNF- α .

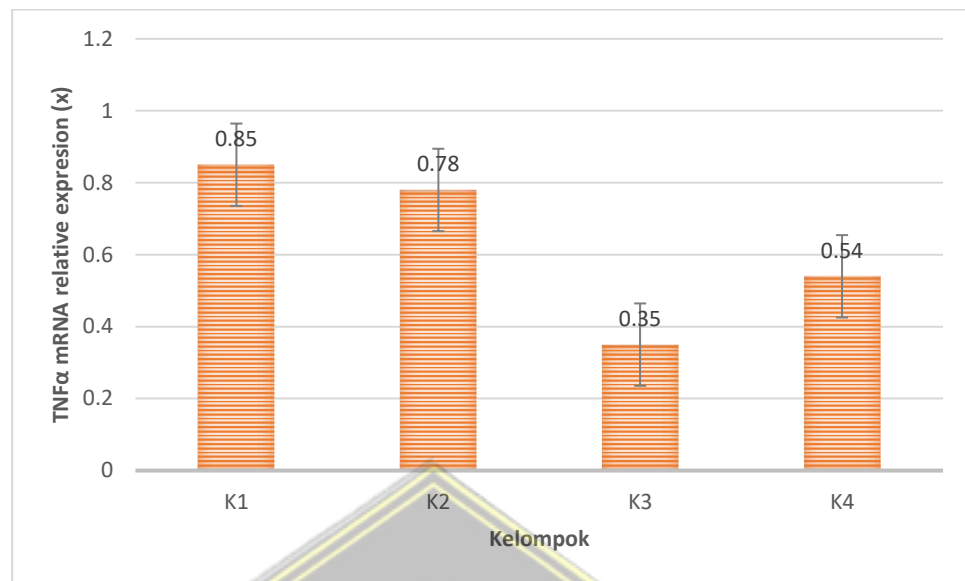
Hasil uji *One Way Anova* yang signifikan dilanjutkan dengan uji beda dua kelompok dengan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui pasangan kelompok mana yang berbeda (tabel 5.2)

Tabel 5.2. Uji *Post Hoc LSD* ekspresi TNF- α

Kelompok	Kelompok Perbandingan	$p(\text{value})$
K1	K2	0,659
	K3	0,006
	K4	0,068
K2	K3	0,016
	K4	0,151
K3	K4	0,259

Keterangan: Berbeda bermakna $p<0,05$

Berdasarkan hasil perbandingan antar dua kelompok, pasangan kelompok yang memiliki perbedaan yang bermakna yaitu K1 dengan K3, dan K2 dengan K3, sedangkan pasangan kelompok yang tidak berbeda pada kelompok K1 dengan K2, K1 dengan K4, K2 dengan K4, dan K3 dengan K4.



Gambar 5.1. Grafik rata-rata ekspresi TNF- α setiap kelompok perlakuan

Hasil analisis rata-rata (Gambar 5.1) menunjukkan bahwa ekspresi TNF- α pada jaringan kulit tikus bervariasi sesuai dengan perlakuan yang diberikan. Kelompok tikus sehat tanpa paparan UV-B (K1) dibandingkan kelompok tikus yang diberikan basis gel tanpa ekstrak *Clitoria ternatea* dan dipapar UV-B (K2) memiliki ekspresi lebih rendah. Tidak adanya perbedaan bermakna antara K1 dan K2 menunjukkan bahwa paparan UV-B tidak secara signifikan meningkatkan ekspresi TNF- α dalam kondisi ini, atau efek dari basis gel mungkin membantu mempertahankan tingkat ekspresi yang hampir sama dengan kondisi normal.

Pemberian gel ekstrak *Clitoria ternatea* dosis 5% sebelum paparan UV-B (K3) menyebabkan penurunan ekspresi TNF- α yang signifikan menjadi $0,35 \pm 0,20$. Perbedaan yang bermakna antara K1 dan K3, serta K2 dan K3, menunjukkan bahwa ekstrak *Clitoria ternatea* dosis 5% memiliki efek protektif yang nyata dalam menurunkan ekspresi TNF- α , yang merupakan biomarker

peradangan akibat paparan UV-B.

Sementara itu, kelompok yang diberikan gel ekstrak *Clitoria ternatea* dosis 10% (K4) menunjukkan ekspresi TNF- α sebesar $0,54 \pm 0,30$. Meskipun lebih rendah dibandingkan K1 dan K2, tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara K1 dan K4, K2 dan K4, maupun K3 dan K4. Hal ini mengindikasikan bahwa peningkatan dosis ekstrak dari 5% menjadi 10% tidak memberikan efek yang signifikan dalam menekan ekspresi TNF- α . Secara keseluruhan, temuan ini menunjukkan bahwa dosis 5% berbeda bermakna dalam menurunkan ekspresi TNF- α dibandingkan dosis 10%, yang mungkin disebabkan oleh efek optimal pada dosis sedang, sementara dosis lebih tinggi bisa menyebabkan mekanisme kompensasi atau efek stimulasi ringan terhadap ekspresi TNF- α . Tidak adanya perbedaan yang signifikan antara K3 dan K4 juga menunjukkan bahwa peningkatan dosis tidak selalu berbanding lurus dengan efek antiinflamasi yang lebih besar.

5.1.2. Hasil analisis ekspresi caspase 3 jaringan kulit pada tiap kelompok

Hasil analisis rata-rata ekspresi caspase 3 pada jaringan kulit tikus yang diberikan topikal sesuai perlakuan kelompok dan dipapar sinar UVB akut didapatkan hasil pada kelompok tikus sehat (K1) sebesar $0,83 \pm 0,11$, kelompok tikus yang diberikan basis gel dan dipapar UV-B (K2) sebesar $0,89 \pm 0,38$, kelompok tikus yang diberikan gel ekstrak *Clitoria ternatea* L dosis 5% dan dipapar UV-B (K3) sebesar $1,60 \pm 0,32$, dan kelompok tikus yang diberikan gel ekstrak *Clitoria ternatea* L dosis 10% dan dipapar UV-B (K4) sebesar $1,52 \pm 0,50$, dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3. Hasil deskripsi rerata ekspresi caspase 3 (caspase 3 mRNA *relative expresion* (x) dan uji *One way anova*

Kelompok	K1	K2	K3	K4	<i>p value</i>
Ekspresi caspase 3					
Mean	0,83	0,89	1,60	1,52	
SD	±0,11	±0,38	±0,32	0,50	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,783	0,272	0,141	0,277	
<i>Leuvene Test</i>					0,041
<i>One way anova</i>					0,005

Keterangan: *Shapiro-Wilk* = Normal ($p > 0,05$)
Leuvene Test = Homogen ($p > 0,05$)
One way anova = Signifikan ($p < 0,05$)

Hasil rata-rata ekspresi caspase 3 dilakukan uji normalitas data dengan *Shapiro-Wilk* didapatkan semua kelompok berdistribusi normal, dengan nilai $p > 0,05$, sedangkan hasil uji homogenitas dengan *Levene Test* didapatkan nilai $p = 0,041$ ($p > 0,05$), yang berarti data memiliki variansi yang tidak homogen. Rata-rata ekspresi caspase 3 terdistribusi normal dan variasi data yang tidak homogen sehingga dapat dilakukan uji statistik parametrik *One Way Anova* dengan hasil nilai $p = 0,005$ ($p < 0,05$) sehingga disimpulkan terdapat perbedaan signifikan antar semua kelompok perlakuan terhadap ekspresi caspase 3.

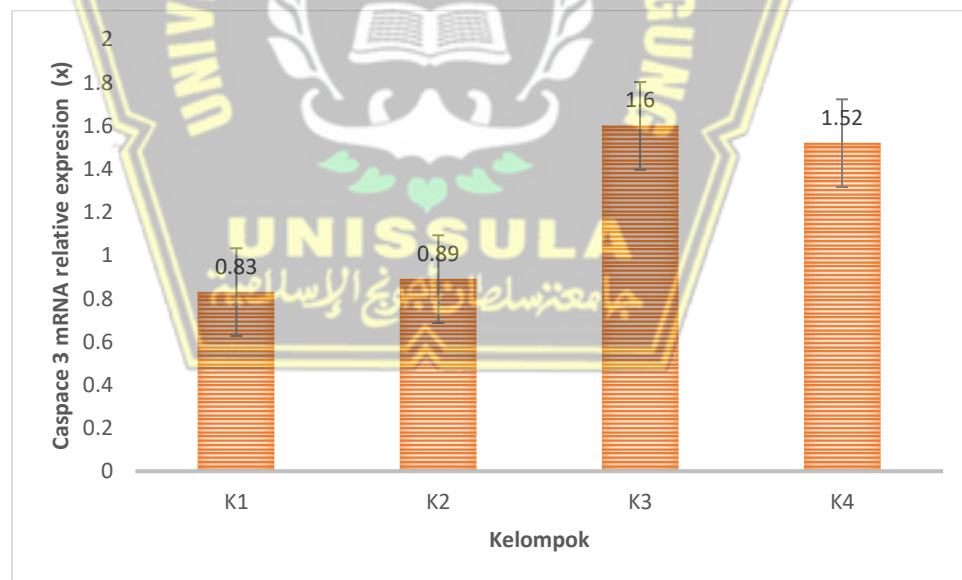
Hasil uji *One Way Anova* yang signifikan dilanjutkan dengan uji beda dua kelompok dengan uji *Post Hoc Tamhane* untuk mengetahui pasangan kelompok mana yang berbeda (tabel 5.4.)

Tabel 5.4. Uji *Post Hoc Tamhane* ekspresi caspase 3

Kelompok	Kelompok Perbandingan	<i>p</i> (value)
K1	K2	0,999
	K3	0,022
	K4	0,196
K2	K3	0,079
	K4	0,317
K3	K4	1,000

Keterangan: Bermakna $p < 0,05$

Berdasarkan hasil perbandingan antar dua kelompok, pasangan kelompok yang memiliki perbedaan yang bermakna hanya pada kelompok K1 dengan K3, sedangkan pasangan kelompok yang tidak berbeda pada kelompok K1 dengan K2, K1 dengan K4, K2 dengan K3, K2 dengan K4, dan K3 dengan K4.



Gambar 5.2. Grafik rata-rata ekspresi caspase 3 setiap kelompok perlakuan

Hasil analisis menunjukkan bahwa ekspresi Caspase-3 pada jaringan kulit tikus yang diberikan perlakuan topikal dan dipapar sinar UV-B akut bervariasi sesuai dengan kelompok perlakuan. Kelompok tikus sehat tanpa paparan UV-B

(K1) dibandingkan kelompok tikus yang diberikan basis gel tanpa ekstrak *Clitoria ternatea* dan dipapar UV-B (K2) menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna antara K1 dan K2, paparan sinar UV-B dalam kondisi percobaan belum cukup kuat untuk secara signifikan menginduksi apoptosis melalui jalur Caspase-3.

Kelompok K3 (dosis 5%) menunjukkan ekspresi Caspase-3 lebih tinggi dibandingkan kelompok lainnya. Ekspresi Caspase-3 lebih tinggi pada kelompok K3 dibandingkan K1 menunjukkan bahwa ekstrak *Clitoria ternatea* memiliki sifat antioksidan, pada dosis 5% masih terjadi peningkatan apoptosis akibat paparan UV-B. Hal ini disebabkan oleh mekanisme dualistik ekstrak, di mana pada dosis tertentu masih memungkinkan jalur apoptosis terjadi, terutama dalam fase awal regenerasi jaringan. Sementara itu, kelompok K4 (dosis 10%) memiliki ekspresi Caspase-3 berbeda dari K3. Mengindikasikan bahwa peningkatan dosis dari 5% menjadi 10% tidak memberikan efek protektif terhadap apoptosis.

5.2. Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata ekspresi TNF- α pada kelompok sehat (K1) dibandingkan kelompok yang diberikan basis gel dan dipapar sinar UV-B (K2) tidak berbeda bermakna. Paparan sinar UV-B seharusnya meningkatkan ekspresi TNF- α sebagai respons inflamasi kulit terhadap kerusakan sel. Namun, dalam penelitian ini, ekspresi TNF- α pada K2 justru lebih rendah atau setara dengan K1. Hal ini disebabkan oleh durasi paparan UV-B yang tidak cukup kuat untuk menginduksi stres seluler dan respons inflamasi yang signifikan. Selain

itu, basis gel tanpa bahan aktif juga memberikan efek protektif minimal dengan menciptakan lapisan penghalang fisik terhadap sinar UV-B, sehingga mengurangi penetrasi dan menekan respons inflamasi. Faktor lain yang berpengaruh adalah waktu sampling pada hari ke-8, di mana respons inflamasi akut biasanya terjadi dalam 24-72 jam pasca-paparan. TNF- α sebagai sitokin proinflamasi cenderung memuncak pada fase awal inflamasi, sehingga waktu pengambilan sampel yang terlalu lama dapat menyebabkan ekspresinya kembali mendekati kondisi basal (seperti pada K1).

Sementara itu, ekspresi Caspase-3 pada K1 dibandingkan K2, juga tidak menunjukkan perbedaan bermakna. Paparan sinar UV-B biasanya memicu apoptosis melalui jalur Caspase-3 akibat kerusakan DNA dan stres oksidatif. Namun, hasil ini menunjukkan bahwa intensitas paparan UV-B tidak cukup tinggi untuk memicu apoptosis. Selain itu, pada hari ke-8 setelah paparan UV-B, proses apoptosis telah berlalu dan kulit sudah memasuki fase regenerasi atau pemulihan. Sel-sel kulit yang rusak mungkin telah tereliminasi dan digantikan oleh sel-sel baru yang sehat, sehingga ekspresi Caspase-3 kembali mendekati tingkat normal. Kulit juga memiliki mekanisme adaptif, seperti aktivasi sistem perbaikan DNA dan antioksidan endogen, yang mampu menekan apoptosis jika paparan stresor UV-B tidak terlalu kuat atau durasinya terbatas.

Hasil menunjukkan ekspresi TNF- α maupun Caspase-3 tidak menunjukkan perubahan signifikan antara kelompok K1 dan K2, kemungkinan akibat intensitas paparan UV-B yang kurang optimal dan waktu pengambilan sampel yang tidak tepat.

Ekspresi TNF- α yang paling rendah pada kelompok K3 (gel ekstrak *Clitoria ternatea* dosis 5%) dibandingkan dengan kelompok lainnya menunjukkan adanya efek antiinflamasi yang kuat pada dosis ini. Mekanisme ini berkaitan dengan kandungan aktif dalam ekstrak *Clitoria ternatea*, seperti antosianin, flavonoid, dan senyawa antioksidan lainnya. Senyawa-senyawa ini mampu menekan aktivitas jalur NF- κ B, yang merupakan regulator utama dalam produksi TNF- α sebagai respons terhadap stres oksidatif dan peradangan akibat paparan sinar UV-B. Ekstrak *Clitoria ternatea* juga dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan endogen seperti *Superoxide Dismutase* (SOD), yang membantu mengurangi radikal bebas dan mencegah aktivasi makrofag dan sel inflamasi lainnya. Pada dosis 5%, terjadi keseimbangan antara efek antioksidan dan antiinflamasi, sehingga menghambat produksi sitokin proinflamasi termasuk TNF- α secara optimal.

TNF- α yang lebih rendah pada K3 juga menunjukkan bahwa dosis 5% mampu mencegah kerusakan membran sel dan disfungsi mitokondria, yang sering menjadi sumber utama sinyal inflamasi. Berbeda dengan dosis 10% (K4), di mana mungkin terjadi efek paradoks akibat konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi, seperti aktivasi mekanisme kompensasi atau stres ringan yang justru memicu respons inflamasi. Pada K3 ekstrak *Clitoria ternatea* tidak hanya melindungi kulit dari stres oksidatif tetapi juga menghambat kaskade peradangan dengan cara yang lebih efektif dibandingkan dosis lain atau kelompok kontrol.

Temuan ini sejalan dengan hasil penelitian, yang menunjukkan bahwa dosis 5% lebih efektif dalam menekan respon inflamasi dan apoptosis akibat paparan UV-B. Selain itu, penelitian lain mengindikasikan bahwa ekstrak bunga telang memiliki kandungan antioksidan yang dapat melindungi kulit dari kerusakan akibat radiasi UV.⁵³ Penelitian yang mendukung temuan ini antara lain studi oleh Cahyani (2022), yang meneliti efek pemberian gel ekstrak bunga telang terhadap ekspresi TNF- α dan Caspase-3 pada tikus Wistar yang dipapar UVB. Hasilnya menunjukkan bahwa dosis 5% efektif menurunkan ekspresi TNF- α dan Caspase-3, sementara dosis 10% tidak memberikan efek tambahan yang signifikan. Selain itu, penelitian oleh Subchan et al. (2022) menemukan bahwa gel ekstrak *Clitoria ternatea* L. 5% dapat menghambat peningkatan ekspresi MMP-1 pada kulit tikus Wistar yang terpapar sinar UV-B, mendukung efek protektif ekstrak ini terhadap kerusakan kulit akibat UV-B. Penelitian lain oleh Sari (2024) mengkaji efek aplikasi gel ekstrak bunga telang sebagai tambahan scaling dan root planing pada terapi periodontitis kronis tikus Wistar. Hasilnya menunjukkan penurunan kadar TNF- α , mengindikasikan potensi antiinflamasi ekstrak bunga telang. Secara keseluruhan, penelitian-penelitian ini mendukung temuan bahwa ekstrak *Clitoria ternatea*, khususnya pada dosis 5%, memiliki efek antiinflamasi dan protektif terhadap kerusakan sel akibat paparan sinar UV-B.

Ekspresi Caspase-3 yang lebih tinggi pada kelompok K3 (dosis 5%) dan K4 (dosis 10%) dibandingkan kelompok lainnya menunjukkan adanya mekanisme molekuler yang kompleks dalam respons kulit terhadap paparan sinar UV-B dan pengaruh ekstrak *Clitoria ternatea*. Caspase-3 merupakan enzim kunci dalam jalur

apoptosis, khususnya melalui jalur intrinsik yang diinisiasi oleh stres oksidatif dan kerusakan DNA akibat radiasi UV-B.

Pada kelompok K3 (dosis 5%) memiliki efek dualistik. Di satu sisi, senyawa antioksidan dalam ekstrak, seperti antosianin, flavonoid, dan quercetin, yang mampu menetralkan radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif. Namun, pada dosis 5%, juga memicu mekanisme regenerasi kulit yang melibatkan apoptosis terkontrol. Dalam proses regenerasi jaringan, apoptosis diperlukan untuk menghilangkan sel-sel yang rusak dan memungkinkan proliferasi sel baru. Peningkatan Caspase-3 pada K3 mencerminkan fase awal penyembuhan jaringan di mana sel-sel yang rusak dieliminasi melalui apoptosis. Pada kelompok K4 (dosis 10%), ekspresi Caspase-3 juga tinggi, tetapi sedikit lebih rendah dibandingkan K3, yang mengarah pada efek pro-apoptosis yang berbeda. Konsentrasi antioksidan yang lebih tinggi dalam ekstrak pada dosis 10% bisa memicu efek "pro-oksidan" dalam kondisi tertentu, terutama jika kapasitas antioksidan endogen dalam sel terlampaui. Kondisi ini menyebabkan akumulasi ROS dalam jumlah yang lebih besar, yang mengaktifkan jalur intrinsik apoptosis melalui peningkatan permeabilitas membran mitokondria, pelepasan sitokrom c, dan aktivasi Caspase-3.

Dosis ekstrak yang lebih tinggi mengganggu homeostasis seluler, memicu respons stres ER (*Endoplasmic Reticulum Stress*) dan aktivasi jalur *caspase*-dependent apoptosis. Efek ini bisa terjadi karena senyawa aktif pada konsentrasi tinggi dapat berinteraksi dengan membran sel atau organel secara langsung, menyebabkan disfungsi seluler yang memerlukan eliminasi melalui apoptosis.

Peningkatan ekspresi Caspase-3 pada K3 dan K4 menunjukkan bahwa *Clitoria ternatea* memiliki aktivitas biologis yang kompleks, di mana dosis yang lebih rendah (5%) mendukung regenerasi jaringan melalui apoptosis terkontrol, sedangkan dosis lebih tinggi (10%) mungkin memicu stres seluler yang lebih berat, sehingga meningkatkan apoptosis melalui mekanisme pro-oksidan atau stres ER.

Terdapat beberapa keterbatasan dalam penelitian ini dimana, durasi dan intensitas paparan UV-B yang digunakan belum cukup kuat untuk memicu respons inflamasi dan apoptosis yang signifikan, terlihat dari ekspresi TNF- α dan Caspase-3 pada kelompok K2 yang tidak meningkat seperti yang diharapkan. Selain itu, waktu pengambilan sampel pada hari ke-8 setelah paparan UV-B tidak ideal, mengingat puncak ekspresi TNF- α dan Caspase-3 biasanya terjadi dalam 24-72 jam pertama. Hal ini berpotensi membuat data ekspresi protein kurang mencerminkan fase inflamasi dan apoptosis akut. Basis gel tanpa bahan aktif juga tampaknya berperan sebagai penghalang fisik, mengurangi penetrasi sinar UV-B dan menekan respons inflamasi secara pasif. Ekstrak *Clitoria ternatea* menunjukkan efek dualistik pada dosis 5% memberikan perlindungan optimal, namun pada dosis 10% justru memicu apoptosis melalui mekanisme pro-oksidan atau stres ER. Temuan ini menyoroti pentingnya studi lebih lanjut untuk menentukan dosis optimal ekstrak, agar efek protektif tetap maksimal tanpa memicu respons biologis yang tidak diinginkan.

BAB VI

KESIMPULAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

- 1) Terdapat pengaruh pemberian gel ekstrak *Clitoria ternatea* terhadap ekspresi TNF- α dan Caspase-3 pada kulit yang terpapar sinar UV-B akut.
- 2) Pemberian gel ekstrak *Clitoria ternatea* 5% secara topikal menyebabkan ekspresi TNF- α lebih rendah dan ekspresi Caspase-3 lebih tinggi dibandingkan kelompok basis gel maupun kelompok sehat.
- 3) Pemberian gel ekstrak *Clitoria ternatea* 10% secara topikal tidak berpengaruh terhadap ekspresi TNF- α dan Caspase-3 dibandingkan kelompok basis gel maupun kelompok sehat.

6.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat disarankan sebagai berikut:

1. Penelitian selanjutnya perlu menguji berbagai intensitas dan durasi paparan UV-B untuk memastikan stres seluler yang memadai, sehingga respons inflamasi dan apoptosis lebih signifikan dan data lebih mencerminkan kondisi patologis yang relevan.
2. Pengambilan sampel sebaiknya dilakukan dalam beberapa interval waktu, terutama 24-72 jam pasca-paparan UV-B, untuk menangkap puncak ekspresi TNF- α dan Caspase-3 serta memahami dinamika respons inflamasi dan apoptosis selama regenerasi kulit.
3. Penelitian selanjutnya perlu menguji rentang dosis ekstrak *Clitoria ternatea*

yang lebih luas untuk menentukan ambang dosis optimal dan memahami mekanisme molekuler efek dualistiknya, termasuk pengaruh terhadap stres ER dan jalur apoptosis.



DAFTAR PUSTAKA

1. Na EJ, Ryu JY. Anti-inflammatory effects of prunin on UVB-irradiated human keratinocytes. *Biomed Dermatol*. 2018;2(1). doi:10.1186/s41702-018-0024-9.
2. Muhartono M, Subeki S. Ekspresi Caspase-3 pada Kanker Payudara Tikus Setelah Pemberian Antikanker Brusein-A. *Glob Med Health Commun*. 2017;5(3):189. doi:10.29313/gmhc.v5i3.2263.
3. Widiyanto B, Yuniarifa C, Purnamasari R. Efek Perlindungan Ekstrak Bunga Telang Terhadap Densitas Kolagen Dari Paparan Sinar UVB. *J Sehat Indones*. 2022;16(1):1-23.
4. Puspitasari D, Pratimasari D, Andriani D. Penentuan Nilai SPF (Sun Protection Factor) Krim Ekstrak Etanol Bunga Telang Secara in Vitro Menggunakan Metode Spektrofotometri. *J Insan Farm Indones*. 2019;2(1):118-125. doi:10.36387/jifi.v2i1.304.
5. Marpaung AM. Tinjauan manfaat bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) bagi kesehatan manusia. *J Funct Food Nutraceutical*. 2020;1(2):63-85. doi:10.33555/jffn.v1i2.30.
6. Garcella P, Wijaya TH, Kurniawan DW. Narrative Review: Herbal Nanocosmetics for Anti Aging. *J Pharm Sci Clin Res*. 2023;8(1):63. doi:10.20961/jpscr.v8i1.57675.
7. Cahyani E, Putra A, Subchan P. Potential Use of the Gel Extract of Butterfly Pea Flower as Topical Therapy to Prevent Photodamage by Downregulating TNF- α and Caspase-3 Expression Levels in UVB-Exposed Rats. *Makara J Health Res*. 2023. doi:10.7454/msk.v27i1.1411.
8. Jang DI, Lee AH, Shin HY, et al. The role of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in autoimmune disease and current TNF- α inhibitors in therapeutics. *Int J Mol Sci*. 2021;22(5):1-16. doi:10.3390/ijms22052719.
9. Petruk G, Giudice R Del, Rigano MM, Monti DM. Antioxidants from plants protect against skin photoaging. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018. doi:10.1155/2018/1454936.
10. Sagala JP, Prabowo WC, Rusli R, et al. Pengaruh Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Etlingera Elatior*) Terhadap Penyembuhan Luka Pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*). In: *Proceeding of Mulawarman Pharmaceutic*.; 2016.
11. Oguis GK, Gilding EK, Jackson MA, Craik DJ. Butterfly pea (*Clitoria ternatea*), a cyclotide-bearing plant with applications in agriculture and medicine. *Front Plant Sci*. 2019;10. doi:10.3389/fpls.2019.00645.
12. Kumar RT, Kumar SR, Rajesh Kumar CT. Phytochemical and antibacterial activities of crude leaf and root extracts of *Clitoria ternatea* varieties (Fabaceae). *J Pharmacogn Phytochem*. 2017;6(6):1104.
13. Syafa' Atullah AQ, Amira A, Hidayati S, Mahfud M. Anthocyanin from butterfly pea flowers (*Clitoria ternatea*) by ultrasonic-assisted extraction. *AIP Conf Proc*. 2020;2237. doi:10.1063/5.0005289.
14. Xiang Y, Lai F, He G, et al. Alleviation of Rosup-induced oxidative stress in porcine granulosa cells by anthocyanins from red-fleshed apples.

- PLoS One*. 2017;12(8). doi:10.1371/journal.pone.0184033.
15. Jayanti M, Ulfa AM, Yasir AS. The Formulation and Physical Evaluation Tests of Ethanol in Telang Flower (*Clitoria ternatea L.*) Extract Lotion Form as Antioxidant. *Biomed J Indones*. 2021;7(3):488-495. doi:10.32539/bji.v7i3.543.
 16. Saritani ATB, Wiraguna AAGP, Maker LPII. *Clitoria ternatea L.* extract cream 5% inhibits the increase of MMP-1 levels and decrease of collagen amount in Wistar rats (*Rattus norvegicus*) dermic skin exposed to ultraviolet B. *Neurol Spinal Med Chirug*. 2021;4(3):109-113. doi:10.36444/nsmc.v4i3.183.
 17. Subchan P, Putri RS, Muna NI, et al. Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) Menghambat Peningkatan Ekspresi Gen MMP-1 pada Kulit Tikus Wistar yang Terpapar Sinar Ultraviolet B. *J Midwifery Health Sci Sultan Agung*. 2022;(2):13-21. doi:10.30659/jmhsa.v1i2.22.
 18. Amalia RI, Prastiya W, Meirawati N, et al. Effectiveness of Mucoadhesive Patch *Clitoria ternatea* Extract in Wound Healing Process After Tooth Extraction in Sprague Dawley Rats. *J Dent Indones*. 2024;31(3):232-240. doi:10.14693/jdi.v31i3.1712.
 19. Fleshner M, Frank M, Maier SF. Danger signals and inflammasomes: stress-evoked sterile inflammation in mood disorders. *Neuropsychopharmacology*. 2017;42(1):36-45. doi:10.1038/npp.2016.125.
 20. Silva DA, Correia TM, Pereira R, da Silva RA, Augusto O, Queiroz RF. Tempol reduces inflammation and oxidative damage in cigarette smoke-exposed mice by decreasing neutrophil infiltration and activating the Nrf2 pathway. *Chem Biol Interact*. 2020;329:109210. doi:10.1016/j.cbi.2020.109210.
 21. Sabeh R, Bonnet M, Corf K, et al. A gender-dependent molecular switch of inflammation via myd88/estrogen receptor- α interaction. *J Inflamm Res*. 2021;14:2149-2156. doi:10.2147/JIR.S306805.
 22. Lee KJ, Park KH, Hahn JH. Alleviation of ultraviolet-B radiation-induced photoaging by a TNFR antagonistic peptide, TNFR2-SKE. *Mol Cells*. 2019;42(2):151-160. doi:10.14348/molcells.2018.0423.
 23. Shen H, Kreisel D, Goldstein DR. Processes of sterile inflammation. *J Immunol*. 2013;191(6):2857-2863. doi:10.4049/jimmunol.1301539.
 24. Li D, Wu M. Pattern recognition receptors in health and diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2021;6(1):75. doi:10.1038/s41392-021-00687-0.
 25. Qu D, Ling Z, Tan X, et al. High mobility group protein B1 (HMGB1) interacts with receptor for advanced glycation end products (RAGE) to promote airway smooth muscle cell proliferation through ERK and NF- κ B pathways. *Int J Clin Exp Pathol*. 2019;12:3471-3480.
 26. Pradeep AR, Suke DK, Prasad MVR, et al. Expression of key executioner of apoptosis caspase-3 in periodontal health and disease. *J Investig Clin Dent*. 2016;7(2):174-179. doi:10.1111/jicd.12134.

27. Xi H, Zhang Y, Xu Y, et al. Caspase-1 inflammasome activation mediates homocysteine-induced pyroptosis in endothelial cells. *Circ Res*. 2016;118(10):1525-1539. doi:10.1161/circresaha.116.308501.
28. Green DR, Llamby F. Cell death signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015;7(12):a006080. doi:10.1101/cshperspect.a006080.
29. Hamid AS. Ekspresi caspase-3 pada pulpa gigi kelinci setelah aplikasi bahan pulp-out sebagai alternatif bahan devitalisasi pulpa [dissertation]. Universitas Hasanuddin; 2020.
30. Persinal-Medina M, Llamas S, Chacón M, et al. Polymerizable skin hydrogel for full thickness wound healing. *Int J Mol Sci*. 2022;23(9):4837. doi:10.3390/ijms23094837.
31. Rodan K, Fields K, Majewski G, Falla T. Skincare bootcamp: the evolving role of skincare. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2016;4:e1152. doi:10.1097/GOX.0000000000001152.
32. Tobin DJ. Introduction to skin aging. *J Tissue Viability*. 2017;26(1):37-46. doi:10.1016/j.jtv.2016.03.002.
33. Tampa M, Neagu M, Caruntu C, Constantin C, Georgescu SR. Skin inflammation—a cornerstone in dermatological conditions. *J Pers Med*. 2022;12(9):1370. doi:10.3390/jpm12091370.
34. Karim PL, Aryani IA, Nopriyati. Anatomy and histologic of intrinsic aging skin. *Bioscientia Med J Biomed Transl Res*. 2021;5(11):1165-1177. doi:10.32539/bsm.v5i11.417.
35. Adigbli G, Alshomer F, Maksimcuka J, Ghali S. Principles of plastic surgery, wound healing, skin grafts and flaps. In: *Textbook of Plastic and Reconstructive Surgery*. 2016:3-37.
36. Xu H, Yan Y, Li L, Peng S, Qu T, Wang B. Ultraviolet B-induced apoptosis of human skin fibroblasts involves activation of caspase-8 and -3 with increased expression of vimentin. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2010;26(4):198-204. doi:10.1111/j.1600-0781.2010.00522.x.
37. Lee LY, Liu SX. Pathogenesis of photoaging in human dermal fibroblasts. *Int J Dermatol Venereol*. 2022;3(1):37-42. doi:10.1097/JD9.0000000000000068.
38. Feng XX, Yu XT, Li WJ, et al. Effects of topical application of patchouli alcohol on the UV-induced skin photoaging in mice. *Eur J Pharm Sci*. 2014;63:113-123. doi:10.1016/j.ejps.2014.07.001.
39. Kunchana K, Jarisarapurin W, Chularojmontri L, Wattanapitayakul SK. Potential use of amla (*Phyllanthus emblica L.*) fruit extract to protect skin keratinocytes from inflammation and apoptosis after UVB irradiation. *Antioxidants*. 2021;10(5):703. doi:10.3390/antiox10050703.
40. Yan J, Ma LP, Liu F, et al. Effect of ultraviolet B irradiation on melanin content accompanied by the activation of p62/GATA4-mediated premature senescence in HaCaT cells. *Dose-Response*. 2022;20(1):1-9. doi:10.1177/15593258221075321.
41. Suarna W, Wijaya MS. Butterfly pea (*Clitoria ternatea L.: Fabaceae*) and its morphological variations in Bali. *J Trop Biodivers Biotechnol*. 2021;6(2):112-119. doi:10.22146/JTBB.63013.

42. Nanashima N, Horie K, Maeda H, Tomisawa T, Kitajima M, Nakamura T. Blackcurrant anthocyanins increase the levels of collagen, elastin, and hyaluronic acid in human skin fibroblasts and ovariectomized rats. *Nutrients*. 2018;10(4):495. doi:10.3390/nu10040495.
43. Wang N, Lv J, Zhang W, Lu H. Crucial role of TNF- α in UVB-induced apoptosis in the immortalized keratinocytes. *Biomed Res Int*. 2014;2014:502537.
44. Ritonga NB, 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 utilis paradisiaca*, L.). *Asian J Appl Res Community Dev Empower*. 2020;4(1):54-59. doi:10.29165/ajarcde.v4i1.39.
45. Saewan N, Jimtaisong A. Photoprotection of natural flavonoids. *J Appl Pharm Sci*. 2013;3(9):129-141. doi:10.7324/JAPS.2013.3923.
46. Sowmya R, Supriya V, Rajkumar M. *Clitoria ternatea* (Butterfly Pea)—A plant with antioxidant and antidiabetic properties. Published online 2023. doi:10.17485/IJST/v16i31.1166.
47. Rahman S, Mathew S, Nair P, Ramadan WS, Vazhappilly CG. Health benefits of cyanidin-3-glucoside as a potent modulator of Nrf2-mediated oxidative stress. *Inflammopharmacology*. 2021;29(4):907-923. doi:10.1007/s10787-021-00799-7.
48. Gromkowska-Kępa KJ, Puścion-Jakubik A, Markiewicz-Żukowska R, Socha K. The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging: Review of in vitro studies. *J Cosmet Dermatol*. 2021;20(11):3427-3431. doi:10.1111/jocd.14033.
49. Anwar A, Anwar H, Yamauchi T, et al. Bucillamine inhibits UVB-induced MAPK activation and apoptosis in human HaCaT keratinocytes and SKH-1 hairless mouse skin. *Photochem Photobiol*. 2020;96(4):870-876. doi:10.1111/php.13228.
50. Cavalcante GC, Schaan AP, Cabral GF, et al. A cell's fate: An overview of the molecular biology and genetics of apoptosis. *Int J Mol Sci*. 2019;20(17). doi:10.3390/ijms20174133.
51. Boland K, Flanagan L, Prehn JHM. Paracrine control of tissue regeneration and cell proliferation by Caspase-3. *Cell Death Dis*. 2013;4(7). doi:10.1038/cddis.2013.250.
52. Layal K. Peran Nrf2 dalam patogenesis stres oksidatif dan inflamasi pada penyakit ginjal kronik. Published online 2016.