



EFEK PERLINDUNGAN EKSTRAK BUNGA TELANG (*CLITORIA TERNATEA L.*) TERHADAP DENSITAS KOLAGEN DARI PAPARAN SINAR UVB

Bagas widiyanto¹, Conita Yuniarifa², Rina Purnamasari³

Universitas Islam Sultan Agung Semarang^{1,2}, Universitas Muhammadiyah Semarang³

Email: bagaswidiyanto@unissula.ac.id¹, conita@unissula.ac.id², rina@unimus.ac.id³

ABSTRAK

Kata Kunci:

Bunga Telang, Densitas Kolagen, Sinar UVB.

Sinar UVB yang diemisikan matahari memicu peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) yang berdampak pada penurunan kolagen jaringan kulit. Peningkatan ROS juga menghambat produksi growth factor prokolagen seperti *Transforming Growth Factor β* (TGF-β) sehingga berujung pada penghambatan sintesis kolagen. Senyawa yang terkandung dalam bunga Telang, seperti antosianin diketahui berperan dalam menghambat produksi ROS paparan sinar UVB sehingga dapat menghambat degradasi kolagen pada jaringan kulit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian krim ekstrak bunga *Telang* terhadap dan densitas kolagen pada jaringan kulit tikus yang terpapar UVB intensitas tinggi. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan desain *post-test only control group* menggunakan 5 kelompok penelitian, Kelima kelompok tersebut terdiri dari kelompok sehat, kontrol negatif (paparan sinar UVB), kontrol positif (paparan sinar UVB dan losion tabir surya dengan SPF30 PA+++), kelompok Perlakuan 1 (paparan sinar UVB dan ekstrak krim kacang koro pedang 2,5%), dan kelompok Perlakuan 2 (paparan sinar UVB dan ekstrak krim kacang koro pedang 5%). Densitas kolagen pada sampel dianalisis menggunakan *Sirrius red*. Analisis *Sirrius red* menunjukkan bahwa terdapat peningkatan rerata densitas kolagen yang signifikan pada K4 dan K5 dibandingkan kontrol negatif ($p < 0.05$). Pemberian krim ekstrak Bunga telang mampu berperan dalam peningkatan densitas kolagen pada tikus yang diberi sinar UVB.

Corresponden Author: Bagas widiyanto

Email: bagaswidiyanto@unissula.ac.id

Artikel dengan akses terbuka dibawah lisensi



Pendahuluan

Penelitian membuktikan bahwa paparan sinar ultraviolet B dengan intensitas tinggi dapat menyebabkan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) pada kulit. Ini menyebabkan produksi sitokin pro inflamasi, yang memungkinkan neutrofil dan sel kekebalan lainnya masuk ke dalam jaringan kulit, menyebabkan keriput (Son et al., 2020) (Phipps et al., 2020) (Kang et al., 2020) (Geng et al., 2021).

Akibat penetrasi UVB pada epidermis, jumlah kolagen pada jaringan kulit berkurang, hal ini menyebabkan produksi ROS, dan selanjutnya menyebabkan kerusakan DNA dan

pelepasan interleukin (IL)-6, yang pada gilirannya menyebabkan overekspresi MMP (Mori et al., 2019). Enzim MMP adalah kolagenase yang diaktifkan oleh faktor transkripsi protein-1 (AP-1). Sebagian besar degradasi kolagen dimulai oleh MMP-1 dan dilanjutkan oleh MMP-3. TGF-1 memicu aktivasi kompleks smad2 dan smad3, yang menghasilkan sintesis prokolagen 1 sebagai prekursor kolagen (Freitas-Rodriguez et al., 2017) (Hutapea, 2022).

Menurut penelitian sebelumnya, pemberian antioksidan dapat menurunkan kadar ROS, yang dapat menghentikan peradangan dan memicu produksi kolagen (Roh et al., 2017). Senyawa antioksidan pada bunga telang (*Clitorea ternatea*) yang dapat menurunkan kadar ROS telah banyak diketahui (Nair et al., 2015) (Fitrilia et al., 2020). Pemberian ekstrak telang dalam bentuk krim terbukti dapat mengurangi respon inflamasi pada jaringan kulit yang terpapar sinar UV. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana densitas kolagen jaringan kulit yang terpapar sinar UV B merespon aplikasi topikal krim ekstrak telang (*Clitorea ternatea*).

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedis Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, Semarang pada bulan November - Desember 2022. Desain penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan rancangan *Randomized Posttest Only Controlled Group Design*. Subjek penelitian yang digunakan adalah 25 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dengan berat badan berkisar antara 200-250gram dan berumur 2-3 bulan. Penelitian ini dimulai setelah mendapatkan surat persetujuan etik dari Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung yang berlokasi di Jawa Tengah dengan nomor 349/IX/2022/Komisi Bioetik. Tikus diaklimatisasi selama tujuh hari dan dicukur pada bagian punggung dengan ukuran 2x2 cm sebelum dibagi menjadi lima kelompok. Kelima kelompok tersebut terdiri dari kelompok kontrol (NaCl 0,9%), kontrol negatif (paparan sinar UVB), kontrol positif (paparan sinar UVB dan losion tabir surya dengan SPF30 PA+++), kelompok Perlakuan 1 (paparan sinar UVB dan ekstrak krim kacang koro pedang 2,5%), dan kelompok Perlakuan 2 (paparan sinar UVB dan ekstrak krim kacang koro pedang 5%).

Penyinaran UVB menggunakan lampu UVB Philips buatan Polandia dengan panjang gelombang 311 nm (pl-s 9w/01). Penyinaran UVB dilakukan sekali sehari dengan dosis 70 mJ/Cm² setiap kali penyinaran selama 14 hari. Cahaya berjarak 40 cm dari punggung tikus. Radiasi 420 mJ/Cm² diterima sebagai dosis keseluruhan. Mengoleskan krim setiap dua kali sehari, 20 menit sebelum dan 4 jam setelah terpapar sinar UVB, dengan mengoleskannya secara merata pada punggung tikus.

Bunga segar bunga telang (*butterfly pea*) dikumpulkan dari pertanian bunga di Sleman, provinsi Yogyakarta, Indonesia. Bunga dipetik dalam kondisi sudah mekar, segar dan berwarna biru. Proses pengeringan dengan menggunakan suhu 40°C selama 3 hari, kemudian diperoleh simplisia kering. Simplisia bunga telang yang telah kering kemudian digiling menjadi serbuk, dan ditambahkan 500 mL etanol 96% ke dalam serbuk simplisia di dalam gelas beker. Setelah itu, ekstraksi dilakukan selama 3x3 menit dengan menggunakan peralatan ultrasonik. Sebelum mengulangi ultrasonik, pengadukan dilakukan setiap tiga menit. Untuk membedakan antara filtrat dan maserat, filtrat disaring menggunakan corong Buchner. Filtrat yang terkumpul dimasukkan ke dalam botol kaca. Ada tiga perlakuan yang diberikan. Untuk membuat ekstrak pekat, filtrat yang terkumpul dipekatkan pada suhu 400°C dalam *rotary evaporator*, kemudian dikeringkan dalam oven suhu 400°C.

Kadar flavonoid total dalam ekstrak diukur dengan menggunakan kolorimetri. Sebanyak 1,5 ml $AlCl_3$ (aluminium klorida) 2% dan 1,5 ml larutan ekstrak bunga telang (500 ppm dalam etanol 96%) ditambahkan. Kemudian diinkubasi selama satu jam pada suhu 25°C. Menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang diatur ke 420 nm untuk menentukan kuantitas absorbansi. Jumlah flavonoid secara keseluruhan direpresentasikan sebagai mg QE / g ekstrak menggunakan kuersetin sebagai standar.

Formulasi krim ekstrak bunga butterfly pea dengan konsentrasi 2,5% mengandung 2,5 gram ekstrak etanol bunga simplicia butterfly pea 96% dalam total campuran 100 gram krim dasar. Selain itu, konsentrasi 5% membuat komposisi untuk krim ekstrak bunga kupu-kupu mengandung 5 gram ekstrak etanol bunga kupu-kupu dalam total campuran 100 gram krim dasar. Krim dasar yang digunakan mengandung 3% Sepigel, 2% lanolin, 0,5 fenoksietanol, dan 2% dimetikon.

Kolagen adalah protein matriks ekstraselular yang dihasilkan oleh fibroblast yang teraktivasi pada hari ke 15 setelah awal pemberian perlakuan dan berwarna biru pada pengecatan Sirius red. Metode penghitungan kolagen menggunakan aplikasi komputer.

Analisis Statistik

SPSS digunakan untuk menganalisis data, dan tingkat kepercayaan 95% digunakan. Uji Shapiro-Wilk untuk menentukan normalitas. Hasil uji Shapiro-Wilk pada rerata skor densitas kolagen menunjukkan bahwa distribusi normal. Pengujian kruskal wallis kemudian digunakan untuk menemukan perbedaan kelompok. Untuk menemukan perbedaan di antara kelima kelompok menggunakan analisis post hoc.

Hasil dan Pembahasan

Rerata skor densitas kolagen pada seluruh kelompok perlakuan secara statistik memiliki perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Rerata skor densitas kolagen kelompok tikus yang diinduksi sinar UV B (KS) lebih rendah dibandingkan kelompok tikus sehat (K.N) dan berbeda bermakna ($p < 0,05$). Demikian halnya bila kelompok tikus yang diinduksi sinar UV B dan di beri lotion SPF30 (P1), kelompok tikus yang diinduksi sinar UV B dan diberi cream ekstrak bunga telang 2,5% (P2), kelompok tikus yang diinduksi sinar UV B dan diberi cream ekstrak bunga telang 5% (P3) memiliki rerata skor kolagen yang lebih tinggi dibandingkan dengan K2 dan berbeda secara bermakna.

Tabel 1 Analisis Statistik skor densitas kolagen seluruh kelompok

Kelompok	Densitas kolagen median (Min-Max)	p value				
		KS	KN	P1	P2	P3
KN	3-4		0,00 5	0,05 4	0,00 7	0,01 5
KS	0-1			0,00 7	0,00 5	0,00 5
P1	2-4				0,18 9	0,90 5
P2	2-3					0,07 2
P3	2-3					

Gambar dibawah terlihat bahwa kelompok KN pada gambar A menunjukkan lebih padat warna merah dibandingkan dengan jaringan kulit tikus kelompok KS pada gambar B. Densitas kolagen ditunjukkan dengan warna merah yang padat. Hal yang sama juga terlihat pada pada kelompok P1 pada gambar C, kelompok P2 pada gambar D, kelompok P3 pada gambar E menunjukkan tingkat densitas kolagen jaringan kulit yang lebih padat dibandingkan kelompok K2.

Kerutan pada kulit yang ditandai dengan berkurangnya kolagen, terutama disebabkan oleh paparan radiasi UVB intensitas tinggi. ROS dibuat pada kulit sebagai akibat dari paparan UVB yang intens. Peningkatan ROS yang berlebihan akan mengaktifkan jalur protein kinase, yang pada gilirannya menyebabkan neutrofil mengeluarkan lebih banyak enzim MMP, yang memecah kolagen. Di sisi lain, peningkatan ROS memengaruhi produksi sejumlah sitokin proinflamasi, termasuk interleukin-6 (IL-6), yang memengaruhi apoptosis sel. Kondisi proinflamasi yang bertahan lama berpengaruh pada produksi faktor pertumbuhan prokolagen seperti TGF-, yang akan menghambat sintesis kolagen (Saritani et al., 2021).

Akibat proses penghambatan sintesis kolagen, terjadi peningkatan produksi enzim MMP dan munculnya kerutan di wajah. Antosianin yang terdapat pada bunga telang diketahui berfungsi sebagai mediator anti inflamasi dan dapat mencegah pembentukan ROS akibat paparan sinar UVB yang dapat mencegah kerusakan kolagen pada jaringan kulit. Belum ada penelitian tentang bagaimana ekstrak bunga terung mempengaruhi tikus yang terpapar UVB intensitas tinggi, sebagaimana ditentukan oleh tingkat ekspresi gen TGF dan kepadatan kolagen. Pada penelitian ini, efek ekstrak bunga telang terhadap kepadatan kolagen diuji pada tikus Wistar jantan yang telah mengalami paparan sinar UVB dan kehilangan kolagen. Tikus Wistar digunakan sebagai subjek uji. Setiap hari, selama 15 menit, mereka terpapar sinar UVB dengan intensitas 70 mJ/Cm² pada kulitnya. Induksi sinar UVB dilakukan selama lima hari. Menurut temuan, tikus yang dipapar UVB saja (KS) memiliki kulit dengan kepadatan kolagen yang lebih sedikit daripada tikus sehat (KN) (gambar 1). Temuan ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa paparan UVB intensitas tinggi meningkatkan kadar ROS, yang kemudian mendorong sekresi IL-6 dan MMP berlebihan yang diaktifkan oleh faktor transkripsi protein (AP-1) untuk disekresikan. Ekspresi berlebih MMP menghasilkan

regulasi fibroblas yang tidak seimbang, penghentian siklus sel pada fase G0/G1, dan degradasi kolagen.

Hasil penelitian ini pada kelompok perlakuan menunjukkan bahwa pada tikus yang dipapar sinar UVB dan diberi krim ekstrak bunga Telang dengan dosis 2,5% (P2) dan 5% (P3) mampu meningkatkan kadar kolagen secara signifikan dibandingkan kontrol (KS) ($P < 0.05$). Hal yang sama di tunjukkan pada kelompok control positif (P3) yaitu di papar UVB dan di beri lotion SPF30. Studi terdahulu menunjukkan bahwa paparan UVB dapat menyebabkan produksi ROS, yang merupakan radikal bebas yang memicu pelepasan beberapa faktor inflamasi, seperti $TNF\alpha$ (Saritani et al., 2021) (Purnomo et al., 2021). Ini menyebabkan peningkatan MMP tetapi penurunan densitas kolagen, dengan peningkatan enzim MMP dan penurunan populasi sel fibroblast (Boukhedouni et al., 2020). Karena kemampuannya untuk menyerap sinar UVB dan berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi, bunga telang dengan kandungan flavonoidnya, terutama antosianin, memiliki potensi untuk berfungsi sebagai agen fotoprotektif (Saritani et al., 2021). Menurut profil kandungan kimia bunga Telang, terdapat flavonoid yang memiliki kemampuan untuk memperbaiki kulit yang mengalami penurunan kolagen secara tidak langsung. Penurunan produksi enzim MMP terkait dengan penurunan faktor inflamasi ini. Akibatnya, proses degradasi kolagen akan terhenti. Selain itu, penghambatan ROS memiliki kemampuan untuk mengurangi produksi molekul inflamasi dan memicu polarisasi makrofag 1 (M1) menjadi makrofag 2 (M2), yang memiliki kemampuan untuk mensekresikan TGF-1. Sekresi faktor pertumbuhan ini juga dapat mengaktifasi kompleks smad 2/3, yang bertanggung jawab atas produksi kolagen (Rachmania, 2022). Hal ini didukung dengan turunnya faktor inflamasi TNF alpha dapat menghentikan aktivasi α -SMA, yang menghentikan kematian sel kulit, termasuk sel fibroblast. Hal ini akan menyebabkan pembentukan kolagen, kekenyalan kulit kembali, dan penghapusan kerutan (Zhang et al., 2021). Penelitian ini masih memiliki beberapa keterbatasan, diantaranya adalah belum dilakukan pengukuran pada parameter inflamasi, seperti sitokin IL 6, TGF beta, ROS dan lainnya yang tentu akan lebih menguatkan potensi dari ekstrak krim bunga telang.

Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa pemberian krim ekstrak bunga telang (*Clitorea ternatea*) pada tikus yang terpapar sinar ultraviolet B (UVB) dapat meningkatkan kadar kolagen pada jaringan kulit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok tikus yang diinduksi sinar UVB dan diberi krim ekstrak bunga telang dengan dosis 2,5% dan 5% menunjukkan peningkatan signifikan dalam densitas kolagen dibandingkan dengan kelompok kontrol yang hanya terpapar sinar UVB.

Paparan sinar UVB intensitas tinggi telah terbukti dapat menyebabkan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) pada kulit, yang kemudian memicu peradangan dan penurunan kadar kolagen. Melalui pemberian krim ekstrak bunga telang, yang mengandung senyawa antioksidan, terjadi penurunan kadar ROS dan peningkatan produksi kolagen. Flavonoid dalam bunga telang, terutama antosianin, memiliki potensi sebagai agen fotoprotektif dan antiinflamasi.

Penelitian ini memberikan dukungan empiris terhadap efek positif ekstrak bunga telang dalam meningkatkan kepadatan kolagen pada jaringan kulit yang terpapar sinar UVB. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa ekstrak bunga telang memiliki potensi sebagai bahan aktif

dalam formulasi krim fotoprotektif untuk melindungi kulit dari kerusakan akibat paparan sinar UVB. Namun, penelitian lebih lanjut mungkin diperlukan untuk memahami mekanisme secara lebih rinci dan mengevaluasi efek pada parameter inflamasi lainnya guna menguatkan temuan ini.

Bibliografi

- Boukhedouni, N., Martins, C., Darrigade, A.-S., Drullion, C., Rambert, J., Barrault, C., Garnier, J., Jacquemin, C., Thiolat, D., & Lucchese, F. (2020). Type-1 cytokines regulate MMP-9 production and E-cadherin disruption to promote melanocyte loss in vitiligo. *JCI Insight*, 5(11).
- Fitrilia, T., Kurniawan, M. F., Kurniawati, F. R., & Setiawan, T. (2020). The potential of butterfly pea flower methanol extract as an antioxidant by in silico. *Indonesian Journal of Applied Research (IJAR)*, 1(3), 163–169.
- Freitas-Rodriguez, S., Folgueras, A. R., & Lopez-Otin, C. (2017). The role of matrix metalloproteinases in aging: Tissue remodeling and beyond. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1864(11), 2015–2025.
- Geng, R., Kang, S.-G., Huang, K., & Tong, T. (2021). Boosting the photoaged skin: the potential role of dietary components. *Nutrients*, 13(5), 1691.
- Hutapea, C. M. (2022). *Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Telang Terhadap Ekspresi Gen TGF- β Dan Densitas Kolagen (Studi Eksperimental in Vivo Pada Tikus Jantan Galur Wistar Dengan Penurunan Kolagen Akibat Terpapar Uvb Intensitas Tinggi)*. Universitas Islam Sultan Agung (Indonesia).
- Kang, Y.-M., Hong, C.-H., Kang, S.-H., Seo, D.-S., Kim, S.-O., Lee, H.-Y., Sim, H.-J., & An, H.-J. (2020). Anti-photoaging effect of plant extract fermented with *Lactobacillus buchneri* on CCD-986sk fibroblasts and HaCaT keratinocytes. *Journal of Functional Biomaterials*, 11(1), 3.
- Mori, K., Uchida, T., Yoshie, T., Mizote, Y., Ishikawa, F., Katsuyama, M., & Shibamura, M. (2019). A mitochondrial ROS pathway controls matrix metalloproteinase 9 levels and invasive properties in RAS-activated cancer cells. *The FEBS Journal*, 286(3), 459–478.
- Nair, V., Bang, W. Y., Schreckinger, E., Andarwulan, N., & Cisneros-Zevallos, L. (2015). Protective role of ternatin anthocyanins and quercetin glycosides from butterfly pea (*Clitoria ternatea* Leguminosae) blue flower petals against lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation in macrophage cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(28), 6355–6365.
- Phipps, K. R., Lee, H. Y., Kim, H., & Jeon, B. (2020). Oral administration of a novel hydrolyzed chicken sternal cartilage extract (BioCell Collagen®) reduces UVB-induced photoaging in mice. *Journal of Functional Foods*, 68, 103870.
- Purnomo, A., Purnama, M. T. E., & Fikri, F. (2021). Sediaan topikal ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap kepadatan kolagen tikus albino dengan luka insisi. *Acta VETERINARIA Indonesiana*, 9(3), 195–200.

- Rachmania, R. (2022). *Pengaruh Pemberian Gel Ekstrak Daun Kelor terhadap Ekspresi Gen MMP-3 dan Densitas Kolagen (Studi eksperimental pada tikus wistar dengan penurunan kolagen akibat paparan UVB)*. Universitas Islam Sultan Agung (Indonesia).
- Roh, E., Kim, J.-E., Kwon, J. Y., Park, J. S., Bode, A. M., Dong, Z., & Lee, K. W. (2017). Molecular mechanisms of green tea polyphenols with protective effects against skin photoaging. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(8), 1631–1637.
- Saritani, A. T. B., Wiraguna, A. A. G. P., & Maker, L. P. I. I. (2021). Clitoria ternatea L. extract cream 5% inhibited the increase of MMP-1 levels and decrease of collagen amount in wistar rats (*Rattus norvegicus*) dermic skin exposed to ultraviolet B. *Neurologico Spinale Medico Chirurgico*, 4(3).
- Son, D. J., Jung, J. C., Choi, Y. M., Ryu, H. Y., Lee, S., & Davis, B. A. (2020). Wheat extract oil (WEO) attenuates UVB-induced photoaging via collagen synthesis in human keratinocytes and hairless mice. *Nutrients*, 12(2), 300.
- Zhang, M., Zhang, Y. Y., Chen, Y., Wang, J., Wang, Q., & Lu, H. (2021). TGF- β signaling and resistance to cancer therapy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 786728.