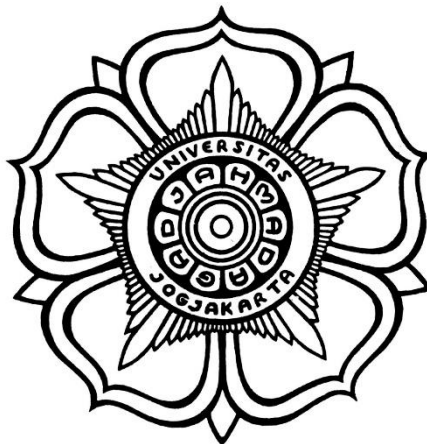


NASKAH PUBLIKASI

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan* L.)
DIBANDINGKAN DENGAN EKSTRAK *Artemisia capillaris* PADA
PENINGKATAN VIABILITAS SEL FIBROBLAS YANG DIPAPAR
SINAR BIRU (*BLUE LIGHT*)**

TESIS PPDS

Untuk memenuhi sebagian persyaratan memperoleh gelar dokter spesialis
dalam bidang Dermatologi dan Venereologi



Diajukan oleh:

Intan Arvianty
21/489620/PKU/19905

Kepada:

**PROGRAM STUDI DERMATOLOGI DAN VENEREOLOGI
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
FAKULTAS KEDOKTERAN,
KESEHATAN MASYARAKAT, DAN KEPERAWATAN
UNIVERSITAS GADJAH MADA YOGYAKARTA
2024**

NASKAH PUBLIKASI

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan* L.)
DIBANDINGKAN DENGAN EKSTRAK *Artemisia capillaris* PADA
VIABILITAS SEL FIBROBLAS YANG DIPAPAR SINAR BIRU (BLUE
LIGHT)**

Dipersiapkan dan disusun oleh:

Intan Arvianty
21/489620/PKU/19905

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama



dr. Arief Budiyo, Ph.D, Sp.D.V.E, Subsp.O.B.K

tanggal...18/3/2024

Pembimbing Pendamping



Dr. dr. Niken Indrastuti, Sp.D.V.E, Subsp.D.A.I.

tanggal...18/3/2024

INTISARI

Latar Belakang: *Blue light* adalah cahaya tampak dengan panjang gelombang antara 400 - 500 nm. Sumber *blue light* yaitu sinar matahari, layar digital, dan *light-emitting diodes* (LEDs). Paparan *blue light* dapat menimbulkan terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS), kerusakan DNA, dan disfungsi sel pada kulit. Irradiasi fibroblas oleh *bluelight* menyebabkan penurunan viabilitas sel. Salah satu tanaman yang memiliki kandungan flavonoid adalah *Caesalpinia sappan L.* (secang). Senyawa flavonoid yang memiliki efek antioksidan kuat adalah quercetin. Quercetin dapat meregulasi keseimbangan antioksidan dan oksidan untuk menekan stres oksidatif. Selain itu, kandungan brazilin *C.Sappan.* menunjukkan efek protektif terhadap stress oksidatif sehingga dikembangkan sebagai terapi potensial untuk mengatasi *photoaging*.

Tujuan: Mengetahui efek pemberian ekstrak etanol *C. sappan L.* dalam meningkatkan viabilitas sel pada sel fibroblas yang dipapar oleh *blue light*.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vitro* yang menggunakan sampel sel fibroblas manusia yang dikultur dalam medium DMEM (*Dubelcco's Modified Eagle Medium*). Pada uji MTT pengaruh ekstrak etanol kayu secang (*C.Sappan*) dalam 6 konsentrasi (250 µg/mL; 125 µg /mL; dan 62,5 µg/mL; 31,3 µg /mL; 15,6 µg /mL dan 7,8 µg/mL), kontrol negatif dan ekstrak *Artemisia capillaris* sebagai kontrol positif yang dipapar *blue light* 21,6 J/cm². Peningkatan viabilitas dinilai dengan *Optical Density* (OD) dan Tingkat Viabilitas. statistik *one way ANOVA* dan *Posthoc* dilanjutkan untuk melihat perbedaan kelompok perlakuan dan kontrol.

Hasil: Viabilitas sel fibroblas dengan paparan sinar biru (*blue light*) mengalami peningkatan secara signifikan dengan pemberian ekstrak etanol kayu secang (*C.Sappan*) dengan konsentrasi 31,3 µg /mL; 15,6 µg /mL dan 7,8 µg/mL ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Ekstrak etanol kayu secang (*C.Sappan*) dengan konsentrasi 31,3 µg /mL; 15,6 µg /mL dan 7,8 µg/mL memiliki efek meningkatkan viabilitas fibroblas yang dipapar *blue light*.

Kata kunci: *Caesalpinia sappan L.*, *quercetin*, *brazilin*, *blue light*

ABSTRACT

Background: Blue light is a type of visible light with a wavelength ranging from 400 to 500 nm. Sources of blue light include sunlight, digital screens, and light-emitting diodes (LEDs). Exposure to blue light can lead to the generation of Reactive Oxygen Species (ROS), DNA damage, and cell dysfunction of the skin. Blue light irradiation on fibroblasts can result in decreased cell proliferation and viability. Many plants, such as *Caesalpinia sappan* L. (secang), are known to contain flavonoids with antioxidant properties. Quercetin, a flavonoid with potent antioxidant effects, is commonly used as a positive control for assessing antioxidant activity. Quercetin plays a crucial role in balancing antioxidants and oxidants to combat oxidative stress. Additionally, brazilin found in *C. Sappan* L. exhibits a protective effect against oxidative stress, making it a promising therapy for treating photoaging.

Objective: This study aims to investigate the impact of administering the ethanol extract of *C. sappan* L. on improving cell viability in fibroblast cells that are exposed to blue light.

Methods: This *in vitro* experimental research involved human fibroblast cell samples cultured in DMEM (Dubelcco's Modified Eagle Medium). In the MTT test, the effect of *C. Sappan* ethanol extract was examined at six different concentrations (250 µg/mL, 125 µg/mL, 62.5 µg/mL, 31.3 µg/mL, 15.6 µg/mL, and 7.8 µg/mL), as well as a control group and *Artemisia capillaris* cells exposed to 21,6 J/cm² blue light. Increased viability is measured by Optical Density (OD) and Viability Level. One-way ANOVA analysis followed by post hoc statistical evaluation was performed to identify differences between the treatment and control groups.

Results: The fibroblast viability significantly increased with the administration of *C. Sappan* ethanol extract at concentrations of 31.3 µg/mL, 15.6 µg/mL, and 7.8 µg/mL ($p < 0.05$).

Conclusion: *C.sappan* ethanol extract with concentration of 31.3 µg / mL; 15.6 µg/mL and 7.8 µg/mL at certain concentrations have the effect of increasing the viability of fibroblasts exposed to blue light..

Keywords: *Caesalpinia sappan* L., quercetin, brazilin, blue light, *Artemisia capillaris*

1. Pendahuluan

Sinar tampak (*visible light*) merupakan spektrum cahaya yang dapat dilihat oleh mata manusia dengan panjang gelombang antara 400-700 nm (1). Sumber sinar tampak (*visible light*) berasal dari cahaya matahari, peralatan elektronik modern, dan *light emitting diodes* (LED) dengan panjang gelombang bervariasi (2). Salah satu spektrum sinar tampak dengan energi tinggi adalah sinar biru (*blue light*) yang memiliki panjang gelombang antara 400-500 nm (1). Sinar biru (*blue light*) baik yang berasal dari matahari maupun alat elektronik diketahui sebagai salah satu faktor penting penyebab penuaan (3). Paparan sinar biru (*blue light*) berdampak langsung pada kulit dengan mekanisme peningkatan stres oksidatif (4). Selain berdampak pada stres oksidatif, paparan berulang sinar biru (*blue light*) tersebut akan memicu reaksi inflamasi, perubahan sawar kulit dan pigmentasi (1,5,6).

Kulit terpapar sinar biru (*blue light*) dalam periode yang cukup lama setiap harinya yang dapat menyebabkan efek kumulatif dari kerusakan kulit (7). Penelitian yang dilakukan oleh Avola *et.al.* menunjukkan adanya dampak paparan sinar biru (*blue light*) terhadap perubahan struktur kulit normal dan penuaan dini (5). Sinar biru (*blue light*) mempengaruhi keseimbangan kulit normal dengan merusak jaringan ikat dermis melalui induksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), ekspresi *matriks metalloprotease* (MMP1), dan sitokin proinflamasi yang menyebabkan *photoaging* (3,6). Jalur oksidatif ini dapat dipicu oleh sumber cahaya alami maupun sumber cahaya buatan. Efek biologis sinar tampak sangat

berperan dalam *photoaging* (6). Sinar biru (*blue light*) dengan panjang gelombang 410, 420, 453 nm menyebabkan peningkatan stres oksidatif dengan menurunkan sifat antioksidan pada fibroblas tanpa menyebabkan efek toksik (8). Pada dosis 420 nm, sinar biru (*blue light*) memiliki peran signifikan dalam menghambat TGF- β termasuk diferensiasi fibroblas menjadi miofibroblas (9). Efek lebih lanjut, sinar biru (*blue light*) memicu ekspresi *matriks metalloprotease* dalam mendegradasi kolagen serta mencegah pembentukan kolagen baru (4).

Berdasarkan data penelitian, 60% populasi manusia menggunakan perangkat elektronik digital secara intensif selama sekitar 6 jam per hari. Hal tersebut mengakibatkan paparan global sinar biru (*blue light*) dengan sumber yang bervariasi (5). Beberapa perangkat artifisial seperti komputer, ponsel, tablet, televisi menggunakan pencahayaan dengan LED sebagai sumber *backlight* yang bertujuan untuk meningkatkan kecerahan dan ketajaman tampilan layar (5,6).

Sering peningkatan penggunaan perangkat elektronik tersebut, produk perawatan kulit yang dipasarkan yang bersumber dari bahan baku alam mengalami peningkatan popularitas dalam beberapa dekade terakhir (3,10). Peningkatan popularitas bahan alami tersebut disebabkan karena bahan sintetis dianggap lebih berdampak buruk pada lingkungan dan kesehatan (10). Perkembangan produk kosmetik dengan segmen “natural” ini juga sejalan dengan meningkatnya permintaan produk perawatan kulit yang memiliki efek “*anti-aging*” yang mencapai 39,6% pada tahun 2015 (3). Mengingat paparan sinar biru (*blue light*) yang tidak dapat dihindari dalam kehidupan sehari-hari, maka penting

bagi suatu produk kosmetik memiliki bahan aktif yang dapat melindungi kulit manusia dari efek negatif sinar ultraviolet maupun sinar biru (*blue light*) (3).

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki sumber bahan alam terbesar dengan berbagai keanekaragaman hayati (11). Salah satu tanaman tradisional yang sering dimanfaatkan sebagai rempah, bahan obat, maupun campuran makanan atau minuman adalah kayu secang atau *Caesalpinia sappan*(11). Kayu dari tanaman ini seringkali dikonsumsi sebagai minuman tradisional dalam bentuk rebusan yang dipercaya memiliki berbagai manfaat sebagai identitas budaya masyarakat yang diwariskan dari generasi ke generasi (11,12). Beberapa komposisi yang terkandung dalam tanaman tersebut digunakan secara empiris untuk mengobati berbagai penyakit (11). Tanaman ini bermanfaat untuk menjaga kekebalan tubuh, menghangatkan tubuh, antioksidan dan menangkal radikal bebas (11). Studi menunjukkan bahwa ekstrak etanol kayu secang (*C.sappan*) memiliki aktivitas antimikroba, antioksidatif, antikonvulsif, dan antiinflamasi (13,14). Selain itu, kayu secang (*C.sappan*) memiliki kemampuan untuk menstimulasi proliferasi dan migrasi fibroblas dermal serta sintesis kolagen sehingga meningkatkan proses penyembuhan luka (13).

Salah satu bahan aktif kosmetik yang beredar di pasaran yang dapat memberikan efek perlindungan terhadap sinar biru (*blue light*) adalah *Artemisia capillaris* (15). Paparan sinar biru (*blue light*) terhadap sel fibroblas menyebabkan penurunan viabilitas, penurunan sintesis ATP dan peningkatan ROS (15). Tanaman ini merupakan salah satu tanaman herbal di Cina yang telah lama digunakan sebagai antipiretik, antiinflamasi, diuretik dan memiliki aktifitas

antioksidan (15,16). Penelitian yang dilakukan oleh Hong *et al.* menunjukkan bahwa *Artemisia capillaris* memiliki efek protektif dengan meningkatkan sistem pertahanan antioksidan, penurunan *reactive oxygen species* (ROS) dan merusak substansi oksidatif pada hati tikus yang mengalami obesitas akibat asupan lemak yang tinggi(16,17). Ekstrak *Artemisia capillaris* dapat mengurangi dampak negatif sinar biru (*blue light*) yang berasal dari paparan komputer, ponsel selular maupun layar tablet digital dengan cara mencegah penurunan viabilitas sel fibroblas, membatasi penurunan ATP sel, dan penurunan kontraksi kulit sehingga digunakan sebagai bahan aktif dalam beberapa produk perawatan kulit (15). Namun demikian, spesies tanaman ini masih sangat langka di Indonesia sehingga kayu secang (*C.sappan*) diharapkan dapat menjadi alternatif tanaman yang digunakan sebagai agen protektif terhadap sinar biru (*blue light*) (18).

Pada penelitian ini penulis ingin mengetahui efek pemberian ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan L*) dalam meningkatkan viabilitas sel fibroblas yang dipapar sinar biru (*blue light*) dibandingkan dengan ekstrak *Artemisia capillaris*. Sejauh yang peneliti ketahui, saat ini di Indonesia belum ada penelitian yang meneliti pengaruh ekstrak etanol kayu secang (*C.sappan*) terhadap viabilitas sel fibroblas yang dipapar sinar biru (*blue light*) dibandingkan dengan ekstrak *Artemisia capillaris*.

2.Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vitro* yang menggunakan sampel sel fibroblas manusia yang dikultur dalam medium DMEM

((*Dubelcco's Modified Eagle Medium*)). Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Kedokteran Departemen Dermatologi dan Venereologi dan Bagian Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta pada bulan September 2022 hingga September 2023.

Subjek penelitian ini adalah biakan sel fibroblas manusia yang dikultur dalam media DMEM dan dilakukan subkultur pasase 4. Biakan sel fibroblas berasal dari jaringan kulit preputium manusia yang didapatkan dari sirkumsisi. Kriteria inklusi pada penelitian ini yaitu kulit dermis dari preputium manusia sehat yang berusia kurang dari 12 tahun,. Kriteria eksklusi pada penelitian ini yaitu kulit preputium yang terinfeksi..

Jaringan yang didapatkan kemudian dipindahkan dari media transport(DMEM + *Penstrep* 2% + *Fungizone* 2%) dan diletakkan di dalam cawan petri 6 mm yang berisi 6 ml FBS. Jika jaringan tidak langsung dikerjakan, maka jaringan disimpandalam suhu 4°C. Rendam jaringan pada larutan povidon iodine 10% selama 3 menit. Lalu, cuci jaringan dengan PBS steril hingga bersih (warna merah dari povidon iodine hilang). Lapisan epidermis dan dermis dipisahkan dengan menggunakan pinset steril. Jaringan dermis kemudian dipotong – potong berukuran 0,5 x 0,5 cm. Jaringan dermis yang telah dipotong – potong dipindahkan ke dalam flask kecil menggunakan pinset Pasteur. Medium DMEM lengkap sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam flask, kemudian flask dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C dengan CO₂ 5% selama 24 jam. Medium DMEM diganti setiap hari selama 3 hari atau hingga jaringan benar – benar sudah menempel. Jika jaringan sudah menempel, medium yang dimasukkan ke dalam flask harus sampai menggenangi jaringan. Penggantian medium selanjutnya dilakukan setiap 3 hari sekali. Fibroblas ditunggu hingga

mencapai 50% dari permukaan flask sebagai tanda bahwa sel fibroblas siap memasuki fase subkultur.

Desain penelitian ini menggunakan 8 kelompok perlakuan yaitu 6 konsentrasi ekstrak kayu secang (*C.sappan*), kontrol positif (ekstrak *Artemisia capillaris*) dan kontrol negatif. Prosedur penelitian ini masing-masing dilakukan dalam tiga kali proses pengulangan (triplikasi).

Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Bagian Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada. Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Bagian Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada. Sebelum ekstraksi, dilakukan persiapan sampel dengan cara tangkai (heartwood) dari *C. sappan* dipilah dan dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dalam suhu ruangan ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) selama 3 hari atau menggunakan kabinet pengering dalam suhu 40°C selama 2 hari. Tangkai yang sudah kering dan bersih tersebut kemudian ditumbuk dan diblender menjadi serbuk halus. Proses ekstraksi daun *C. sappan* (EDC) dilakukan dengan teknik maserasi dan evaporasi dengan cara menambahkan etanol 96% pada 350 g sampel *C. sappan* hingga campuran tersebut larut selama 3 x 24 jam pada suhu ruangan, filtrat yang telah melewati proses maserasi kemudian disaring dan dikumpulkan dalam kontainer. Konsentrasi filtrat ditingkatkan dengan proses evaporasi menggunakan *rotary evaporator*.

Paparan sinar biru (*blue light*) dilakukan menggunakan alat *LED Skin Rejuvenation* Merk BIO-Light® yang sudah dilakukan kalibrasi oleh Badan Standardisasi Nasional dengan kepercayaan 95%. Hasil Pengukuran pada jarak 4

cm memiliki nilai iradiasi $54,72 \text{ watt/m}^2$ atau $0,005472 \text{ watt/cm}^2$. Sebelum dilakukan paparan pada kelompok uji, dilakukan penilaian viabilitas pada kelompok kontrol dengan beberapa dosis sinar biru (*blue light*).

Penilaian viabilitas sel fibroblas dilakukan 24 jam setelah sel dipapar sinar biru (*blue light*). Solusio MTT ($100 \mu\text{g/ml}$) ditambahkan ke dalam biakan sel fibroblas dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 jam. Hasil berupa presipitat formazan dilarutkan dalam DMSO (*Dimethyl sulfoxide*). Nilai absorbansi diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 542 nm. Viabilitas sel fibroblas dapat dihitung berdasarkan hasil absorbansi. Indeks viabilitas sel fibroblas dihitung sebagai perbandingan rerata *Optical Density* (OD) masing – masing kelompok uji terhadap rerata OD kelompok kontrol. Nilai OD kontrol dianggap sebesar 100%. Pengukuran viabilitas sel fibroblas dilakukan pada 1 titik waktu, yaitu 24 jam

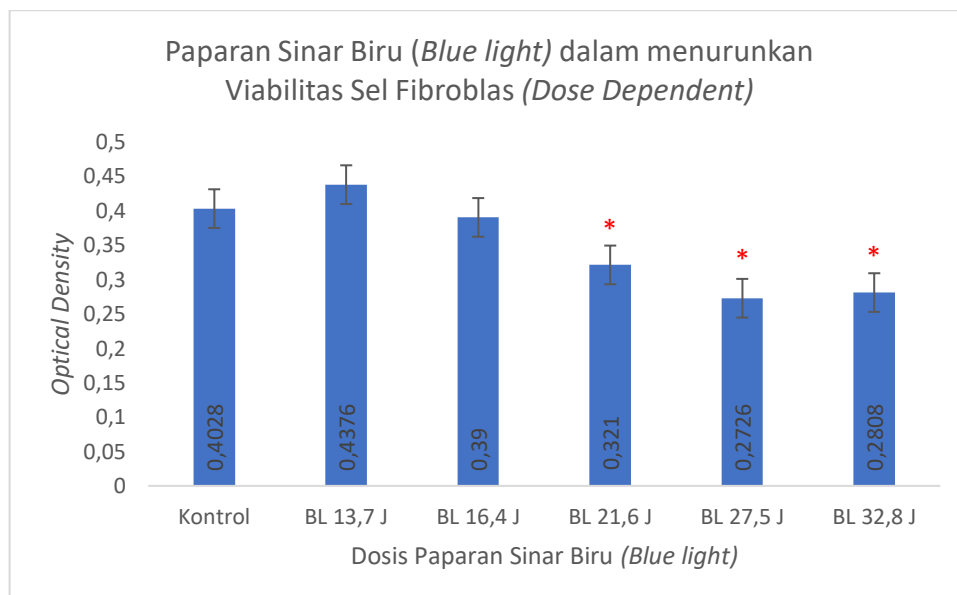
Pada penelitian ini, data – data hasil analisis disajikan dalam bentuk rerata dan ditampilkan dalam bentuk grafik. Analisis data dikerjakan dengan menggunakan program SPSS versi 26. Uji normalitas dengan uji *Saphiro Wilk*. Perbedaan rerata indeks viabilitas sel tiap kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol dianalisis dengan uji *one way ANOVA* jika memenuhi syarat distribusi data normal. Jika pada uji *one way ANOVA* didapatkan nilai $p < 0,05$, maka dilakukan analisis *Post Hoc* dengan *Least Significance Different*.

Penelitian dilakukan setelah memperoleh surat keterangan kelaikan etik dari Komite Etik Penelitian Biomedis Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada dengan nomor: KE/FK/1237/EC/2022.

3. Hasil

Bahan yang akan diujikan pada penelitian ini, terlebih dahulu dilakukan determinasi untuk memastikan spesies tanaman. Sampel kayu secang berasal dari Unit Konsevasi Budidaya Biofarmaka (UKBB) Pusat Studi Biofarmaka Tropika LPPM IPB (Lampiran). Determinasi bahan dilakukan di Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Institut Pertanian Bogor, dengan hasil sesuai untuk tanaman *Caesalpinia sappan* (Lampiran)

Sebelum dilakukan paparan sinar biru (*blue light*), dilakukan pengujian dosis optimum untuk menurunkan viabilitas sel fibroblas. Berdasarkan penelitian terdahulu, dosis yang menyebabkan penurunan viabilitas sel fibroblas tanpa efek toksik yaitu pada dosis 30 J/cm² atau 1 jam 7 menit (19). Pada penelitian ini dilakukan pengujian awal dengan 5 dosis paparan sinar biru (*blue light*) menggunakan alat LED (*Light Emitting Diodes*) yang sudah dikalibrasi.



Keterangan = (*) bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol tanpa paparan sinar biru (*blue light*)

Gambar 1. Dosis Paparan Sinar Biru (*Blue light*)

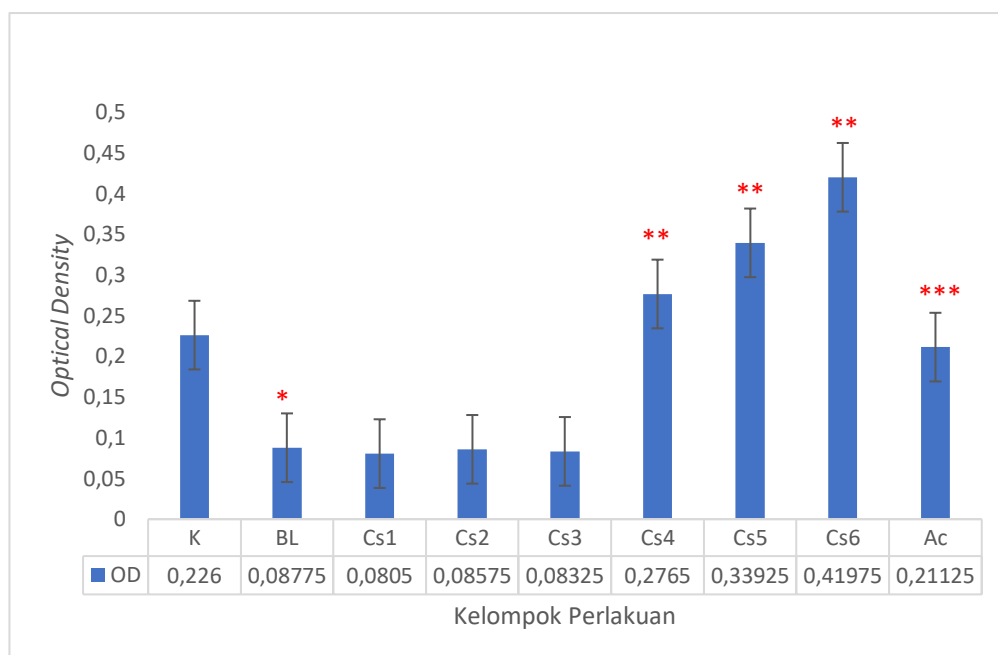
Berdasarkan grafik pada gambar 1, dosis irradiasi sinar biru (*blue light*) terendah yang mampu menurunkan tingkat viabilitas sel fibroblas secara bermakna tanpa menyebabkan efek toksik yaitu pada dosis $21,6 \text{ J/cm}^2$ atau selama 66 menit

Masing-masing kelompok perlakuan dilakukan uji normalitas dengan *Saphiro-Wilk*. Hasil pengujian didapatkan nilai signifikansi sebagian besar kelompok $>0,05$. Nilai tersebut memiliki arti data terdistribusi normal. Untuk mengetahui efek ekstrak etanol kayu secang (*C.Sappan*) dengan kadar yang berbeda terhadap viabilitas fibroblas, maka dilakukan uji *One way ANOVA*.

Uji statistik ANOVA bertujuan untuk mengetahui perbedaan rerata sampel yang berjumlah lebih dari 2 kelompok sampel. Uji ANOVA dapat dilakukan apabila data yang akan diuji telah terdistribusi secara normal dan homogen. Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas, nilai signifikansi lebih dari 0,05 sehingga data dinyatakan normal dan homogen sehingga dapat dilakukan uji parametrik. Hasil uji tersebut didapatkan nilai signifikansi $<0,05$ yang berarti rata-rata viabilitas fibroblas antar kelompok tersebut berbeda bermakna. Berikut ini adalah viabilitas sel fibroblas yang disajikan dalam *Optical Density* setelah paparan sinar biru (*blue light*).

Dari hasil penelitian ini, dilakukan perbandingan antara variabel perlakuan kontrol dengan paparan sinar biru (*blue light*), ekstrak etanol kayu secang (Cs1-Cs6) dan ekstrak *Artemisia capillaris* (Ac). Hasil uji LSD menunjukan perbedaan yang bermakna antara variabel kontrol dengan paparan sinar biru (*blue light*) dibandingkan dengan Cs4, Cs5 dan Cs6 dan memiliki nilai signifikansi $<0,05$. Selain itu, hasil negatif pada *Mean Difference* mengindikasikan bahwa Cs4, Cs5 dan

Cs6 memberikan pengaruh yang sangat baik dan signifikan dalam meningkatkan viabilitas sel fibroblas yang dipapar sinar biru (*blue light*). Meskipun nilai Ac (ekstrak *Artemisia capillaris*) juga bernilai negatif, namun pengaruhnya tidak signifikan dibandingkan kontrol yang dipapar sinar biru (*blue light*) ($p > 0,05$).



Gambar 2. Viabilitas sel yang dilihat dengan *Optical Density* MTT fibroblas pasca paparan sinar biru (*blue light*) pada berbagai kelompok perlakuan

Keterangan:

K= kontrol (medium+sel) tanpa paparan; BL= kontrol (medium+sel) dengan paparan *blue light* 21,6 J/cm²; Cs1= *C.sappan* konsentrasi 250 µg/mL; Cs2= *C.sappan* konsentrasi 125 µg /mL; Cs3= *C.sappan* konsentrasi 62,5 µg /mL; Cs4= *C.sappan* konsentrasi 31,3 µg /mL; Cs5= *C.sappan* konsentrasi 15,6 µg /mL; Cs6= *C.sappan* konsentrasi 7,8 µg /mL; Ac= *Artemisia capillaris* 0,45%

(*) = bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan kontrol tanpa paparan *blue light*

(**) = bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan kontrol dengan paparan *blue light*

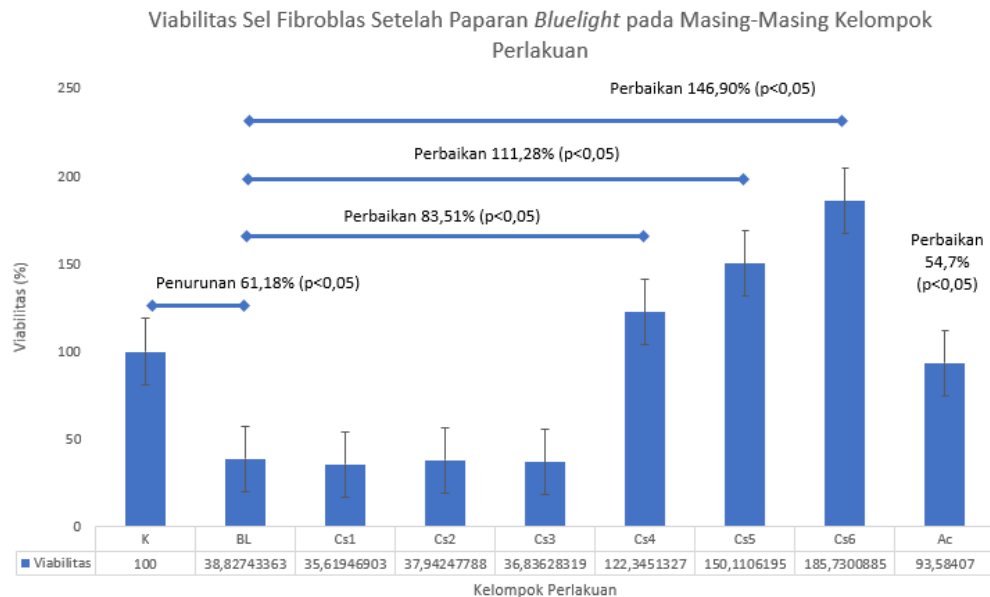
(***) = bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok Cs4, Cs5, Cs6.

Gambar 2. menunjukkan hasil absorbansi MTT assay dengan mengukur *Optical Density*. Kontrol dengan paparan sinar biru (*bluelight*) mengalami

penurunan *Optical Density* secara bermakna dibandingkan dengan kontrol tanpa paparan sinar biru (*blue light*). Ekstrak etanol kayu secang (*C.Sappan*) dengan konsentrasi 31,3 µg /mL; 15,6 µg /mL; 7,8 µg /mL mengakibatkan peningkatan *Optical Density* secara bermakna setelah dipapar sinar biru (*blue light*). Adapun ekstrak *Artemisia capillaris* 0,45% menyebabkan peningkatan *Optical Density* secara bermakna dibandingkan dengan kelompok Cs4, Cs5 dan Cs6.

Tingkat viabilitas sel diukur menggunakan uji MTT Assay yaitu dengan mengukur rerata absorbansi sel fibroblas (OD perlakuan) setelah paparan sinar biru (*blue light*) dengan rerata absorbansi kontrol (OD kontrol). Hasil penelitian menunjukkan terjadi kecenderungan penurunan tingkat viabilitas dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak etanol kayu secang (*C.Sappan*). Pengukuran tingkat viabilitas sel ini menggunakan prinsip pengubahan garam tetrazolium menjadi formazan di dalam mitokondria sel hidup. Semakin tinggi viabilitas sel, semakin tinggi pula konsentrasi formazan dalam sumur kultur sel, yang dapat diamati melalui warna ungu yang terbentuk sebagai formazan.

Konsentrasi ekstrak etanol kayu secang (*C.sappan*). 7,8 µg/mL; 15,6 µg/mL; dan 31,3 µg/mL pada sel fibroblas yang dipapar sinar biru (*blue light*) mengalami peningkatan viabilitas atau *recovery* begitupun konsentrasi ekstrak *Artemisia capillaris* 0,45% pada sel fibroblas setelah dipapar sinar biru (*blue light*) mengalami peningkatan viabilitas. Hasil ini bermakna secara statistik $p < 0,05$.



Gambar 3. Grafik viabilitas sel fibroblas

Keterangan: kelompok kontrol (medium+sel); Cs1= *C.sappan* konsentrasi 250 µg/mL; Cs2=*C.sappan* konsentrasi 125 µg /mL; Cs3= *C.sappan* konsentrasi 62,5 µg /mL; Cs4= *C.sappan* konsentrasi 31,3 µg /mL; Cs5= *C.sappan* konsentrasi 15,6 µg /mL; Cs6= *C.sappan* konsentrasi 7,8 µg /mL; Ac= *Artemisia capillaris* 0,45%

Pada kontrol berisi sel fibroblas dan medium yang dipapar sinar biru (*blue light*) mengalami penurunan tingkat viabilitas sebesar 61,2% dari kontrol yang tidak diberi paparan sinar biru (*blue light*). Dengan pemberian ekstrak *Caesalpinia sappan* L, konsentrasi 31,3 µg/mL; 15,6 µg/mL; dan 7,8 µg/mL masing-masing mampu mengembalikan tingkat viabilitas sel sebesar 83,5%, 111,3%, dan 146,9%. Begitu pula dengan ekstrak *Artemisia capillaris* yang meningkatkan viabilitas sel sebesar 54,7%.

Dalam penelitian ini dilakukan *Dunnet Post hoc Test* untuk mengetahui perbedaan kebermaknaan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Dari hasil uji viabilitas fibroblas terlihat bahwa dengan paparan sinar biru (*blue light*) dapat menurunkan jumlah sel fibroblas hidup hingga 61,2% dibandingkan

dengan kelompok kontrol yang tidak diberikan paparan. Penurunan viabilitas sel fibroblas pada kelompok kontrol dengan paparan sinar biru (*blue light*) bermakna secara statistik ($p < 0,001$).

4. Pembahasan

Tingkat viabilitas sel adalah kemampuan sel untuk mempertahankan diri terhadap kerusakan dan pulih dari kondisi yang memungkinkan kelangsungan hidup pada sel. Teknik pengujian MTT *assay* adalah metode kuantitatif yang dapat mengukur viabilitas sel setelah dipapar bahan uji dengan menggunakan pewarna tetrazorium. Keunggulan dari prosedur MTT antara lain memiliki hasil yang akurat, pengerjaan yang efisien, dan penggunaan dilakukan secara universal pada berbagai jenis sel termasuk fibroblas (20). Semakin tinggi persentase jumlah sel fibroblas yang hidup menunjukkan sitotoksitas suatu zat semakin rendah.

Penurunan viabilitas sel fibroblas dengan pemberian ekstrak etanol kayu secang (*C.Sappan*) dengan dosis 250 $\mu\text{g/ml}$ yang ditandai dengan menurunnya aktivitas mitokondria kemungkinan disebabkan oleh tingginya konsentrasi ekstrak etanol kayu secang (*C.Sappan*) pada medium. Senyawa spesifik pada kayu secang (*C.sappan*) yaitu brazilin memiliki efek antioksidan yang lebih tinggi dari antioksidan komersial sehingga lebih potensial digunakan sebagai penangkal radikal bebas (21). Antioksidan akan berikatan dengan radikal bebas dan mencegah kerusakan membran sel sehingga viabilitas dan proliferasi sel dapat berjalan (21). Selain itu, senyawa fenolik dalam *C,sappan* juga membantu flavonoid dan brazilin dalam mencegah reaksi oksidasi dengan menghentikan reaksi berantai akibat timbulnya radikal bebas(21). Mekanisme senyawa fenolik pembentukan radikal

bebas yaitu dengan mendonorkan atom hidrogen (21). Kadar flavonoid juga dapat mempengaruhi viabilitas sel karena peningkatan kepekatan dari larutan ekstrak menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan (21,22).

Pada penelitian ini, dosis sinar biru (*blue light*) yang dapat menurunkan viabilitas sel fibroblas dengan daya $21,6 \text{ J/cm}^2$ dalam waktu 66 menit. Hal tersebut dapat berbeda sesuai dengan masing-masing alat *blue light* (LED) yang digunakan. Pada penelitian Park *et.al.*, panjang gelombang antara 400-440 nm dengan daya 30 J dalam waktu 1 jam 7 menit menyebabkan peningkatan stress oksidatif intraselular dan sitotoksitas (19). Hal tersebut juga sesuai dengan penelitian *in vitro* Ge *et.al.* yang menunjukkan paparan sinar biru (*blue light*) dengan dosis $\leq 6,5 \text{ J/cm}^2$ tidak berdampak pada sel sedangkan pada dosis $\geq 26 \text{ J/cm}^2$ menyebabkan sitotoksik terhadap sel fibroblas, sehingga rentang dosis yang memiliki efek biologis tanpa berefek sitotoksik berkisar antara $6,5\text{-}26 \text{ J/cm}^2$ (1).

Ekstrak *C.Sappan* telah banyak diteliti terutama di bidang kesehatan (22,23). Penelitian menunjukkan bahwa *C.Sappan* mengandung komponen antioksidan yaitu brazilin yang berperan dengan beberapa mekanisme diantaranya pencegahan inisiasi rantai, mengkatalis pengikatan ion logam transisi, dekomposisi peroksida, pembersihan radikal bebas (24). Struktur senyawa fenolik memainkan peran yang penting dalam menangkal radikal bebas dengan menyumbangkan salah satu ion hidrogen atau elektron. Selain itu, brazilin juga berperan sebagai reduktor prekursor peroksida tertentu sehingga mencegah terbentuknya peroksida (24). Selanjutnya brazilin yang didapat di Indonesia memiliki aktivitas penangkal

radikal bebas ($IC_{50} = 8,8 \text{ mM}$) yang hampir sebanding dengan dengan DPPH standar pada catechin ($IC_{50} = 10,2 \text{ mM}$) (24)

5. Kesimpulan

Ekstrak etanol kayu secang (*C. sappan*). mempunyai potensi tinggi untuk dikembangkan sebagai bahan alami untuk proteksi *photoaging* akibat paparan sinar biru (*blue light*) karena terbukti memiliki kemampuan menghambat penurunan viabilitas sel akibat paparan sinar biru (*blue light*). Paparan *blue light* secara bermakna menurunkan viabilitas sel sesuai dosis (dose- dependent). Ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan*) secara bermakna mempunyai kemampuan menghambat penurunan viabilitas sel akibat paparan blue light (efek protektif).

DAFTAR PUSTAKA

1. Ge G, Wang Y, Xu Y, Pu W, Tan Y, Liu P, et al. Induced skin aging by blue-light irradiation in human skin fibroblasts via. *J Dermatologica*. 2023;(xxxx).
2. Pourang A, Tisack A, Ezekwe N, Torres AE, Kohli I, Hamzavi IH, et al. Effects of visible light on mechanisms of skin photoaging. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2021;(June):191–6.
3. Ferreira MS, Catarina M, Oliveira R, Sousa-lobo JM, Almeida IF. Trends in the Use of Botanicals in Anti-Aging Cosmetics. *MDPI*. 2021;26:1–18.
4. Wortzman M, Rn DBN. A comprehensive topical antioxidant inhibits oxidative stress induced by blue light exposure and cigarette smoke in human skin tissue. *J Cosmet Dermatol*. 2021;20(January):1160–5.
5. Avola R, Carol A, Graziano E, Pannuzzo G, Cardile V. Blue Light Induces Down-Regulation of Aquaporin 1, 3, and 9 in Human Keratinocytes. *MDPI*. 2018;(September):1–13.
6. Bacqueville D, Jamin CJ, Boyer HDF, Ferret YBPI, Douki DRT. Phenylene Bis - Diphenyltriazine (TriAsorB), a new sunfilter protecting the skin against both UVB + UVA and blue light radiations. *Photochem Photobiol Sci* [Internet]. 2021;20(11):1475–86. Available from: <https://doi.org/10.1007/s43630-021-00114-x>
7. Liebel F, Kaur S, Ruvolo E, Kollias N, Southall MD. Irradiation of Skin with Visible Light Induces Reactive Oxygen Species and Matrix-Degrading Enzymes. *Soc Investig Dermatology* [Internet]. 2012;132(7):1901–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/jid.2011.476>
8. Sadowska M, Narbutt J, Lesiak A. Blue Light in Dermatology. *MDPI*. 2021;11:670.
9. Krassovka JM, Suschek C V, Prost M, Grotheer V, Schiefer JL, Demir E, et al. Journal of Photochemistry & Photobiology , B : Biology The impact of non-toxic blue light (453 nm) on cellular antioxidative capacity , TGF- β 1 signaling , and myofibrogenesis of human skin fibroblasts. *J Photochem Photobiol B Biol* [Internet]. 2020;209(April):111952. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.111952>
10. Hamidah S, John CP, Mohd-nasir H, Azim MM, Ahmad A, Alshammari MB. Application of Nanotechnology Incorporated with Natural Ingredients in Natural Cosmetics. *MDPI*. 2022;1–20.
11. Setyowati N, Handoyo J, Yudhistira B. International Journal of Gastronomy and Food Science The hidden treasure of wedang uwuh , an ethnic traditional drink from Java , Indonesia : Its benefits and innovations. *Int J Gastron Food Sci* [Internet]. 2023;31(December 2022):100688. Available from:

<https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2023.100688>

12. Wu SQ, Otero M, Unger FM, Goldring MB, Phrutivorapongkul A, Chiari C, et al. Anti-inflammatory activity of an ethanolic *Caesalpinia sappan* extract in human chondrocytes and macrophages. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2011;138(2):364–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2011.09.011>
13. Shedoeva A, Leavesley D, Upton Z, Fan C. Wound Healing and the Use of Medicinal Plants. *Hindawi Evid Based Complement Altern Med*. 2019;2019(Figure 1).
14. Tewtrakul S, Tungcharoen P, Sudsai T, Karalai C, Ponglimanont C, Yodsauae O. Antiinflammatory and Wound Healing Effects of *Caesalpinia sappan* L. *Phyther Res*. 2015;856(January):850–6.
15. Morvan P, Pentecouteau L, Gasparotto E, Vallée R. Effect of Blue Light on Human Skin and the Protective Effect of *Artemisia Capillaris* Extract. *Int Fed Soc Cosmet Chem*. 2019;(June 2020):93–7.
16. Hong JH, Lee IS. Chemico-Biological Interactions Effects of *Artemisia capillaris* ethyl acetate fraction on oxidative stress and antioxidant enzyme in high-fat diet induced obese mice. *Chem Biol Interact*. 2009;179:88–93.
17. Bora KS, Sharma A. The Genus *Artemisia* : A Comprehensive Review The Genus *Artemisia*. *Parmaceutical Biol*. 2011;0209.
18. Ahn E, Lee YJ, Park J, Chun P, Park Y. Antioxidant Potential of *Artemisia capillaris* , *Portulaca oleracea* , and *Prunella vulgaris* Extracts for Biofabrication of Gold Nanoparticles and Cytotoxicity Assessment. *Nanoscale Res Lett*. 2018;13:1–14.
19. Park J Il, Kim SJ, Kim YJ, Lee SJ. Protective role of *Caesalpinia sappan* extract and its main component brazilin against blue light–induced damage in human fibroblasts. *J Cosmet Dermatol*. 2022;21:1473–2130.
20. Nirwana I, Munadziroh E, Yogiartono RM. Cytotoxicity and proliferation evaluation on fibroblast after combining calcium hydroxide and ellagic acid. *J Adv Pharm Technol Res*. 2021;27–31.
21. Sucita RE, Hamid IS, Purnama MTE. Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L .) Secara Topikal Efektif pada Kepadatan Kolagen Masa Penyembuhan Luka Insisi Tikus Putih. *Res gate*. 2019;2(October).
22. Rohmah A, Hafshah M, Mardliyah A. Potential of Secang Wood (*Caesalpinia sappan* L .) Ethanol Extract as Antioxidant and Sun-Protection. 2022;126–32.
23. Nirmal NP, Panichayupakaranant P, Nirmal NP, Panichayupakaranant P. Antioxidant, Antibacterial and Antiinflammatory activities of Standardized brazilin-rich *Caesalpinia sappan* extract. *Pharm Biol Inf Healthc*.

2015;0209:1339–43.

24. Nirmal NP, Rajput MS, Prasad RGS V, Ahmad M. Brazilin from *Caesalpinia sappan* heartwood and its pharmacological activities : A review. *Asian Pac J Trop Med* [Internet]. 2015;8(6):421–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtm.2015.05.014>