

**PENGARUH SERUM EKSTRAK PROPOLIS  
TERHADAP KADAR IL-1 DAN VEGF PADA MODEL  
*ACNE-LIKE***

**(Studi Eksperimental pada Mencit Jantan yang dipapar *Cutibacterium  
acnes*)**

**Tesis**

Untuk memenuhi sebagai persyaratan mencapai derajat Magister  
(S2)



**Magister Ilmu Biomedis**

Cynthia Kartika Indriastari

MBK.24.23.010436

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

**TESIS**

**PENGARUH SERUM EKSTRAK PROPOLIS TERHADAP  
KADAR IL-1 DAN VEGF PADA MODEL ACNE-LIKE**

**(Studi Eksperimental pada Mencit Jantan yang dipapar Cutibacterium Acnes)**

disusun oleh

**Cynthia Kartika Indriastari**  
**MBK.24.23.010436**

Telah dipertahankan didepan Tim Penguji  
Pada tanggal 25 Agustus 2025  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

  
Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes

  
Dr. dr. Minidian F, M.Sc, Sp.GK (K)

NIP. 210198046

NIP. 210100057

Mengetahui,

Ketua program studi Magister Ilmu Biomedik

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS

NIP. 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/ tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 25 Agustus 2025



(Cynthia Kartika Indriastari)



## RIWAYAT HIDUP

### A. Identitas

Nama : Cynthia Kartika Indriastari  
Tempat / Tanggal Lahir : Pematang Siantar, 29 Oktober 1992  
Agama : Islam  
Jenis Kelamin : Perempuan

### B. Riwayat Pendidikan

1. SD F. Tandean Tebing Tinggi : Lulus tahun 2003
2. SMP Negeri 2 Tebing Tinggi : Lulus tahun 2006
3. SMA Negeri 3 Medan : Lulus tahun 2009
4. S1 Kedokteran UISU Medan : Lulus tahun 2015
5. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : 2024 – Sekarang

### C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : Herik Pratama, M.Pd



## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas rahmat dan karunia-Nya, sehingga proposal tesis ini yang berjudul "Pengaruh Serum Ekstrak Propolis Terhadap Kadar IL-1 dan VEGF pada Model *Acne-like* (Studi Eksperimental pada Mencit Jantan yang dipapar *Cutibacterium Acne*)" dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat mencapai gelar Magister Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Penulis menyadari bahwa proposal 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 proposal tesis ini.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Gunarto, S.H., M.Hum, selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang 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.F, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah memberikan pengarahan dan dukungan dalam penyusunan proposal tesis ini.

4. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing I, yang telah memberikan banyak perhatian, waktu, kritik, saran, serta motivasi yang membangun bagi penulis selama penyusunan proposal tesis ini.
5. Dr. dr. Minidian Fasitarsi, M.Sc, Sp.GK (K), selaku Dosen Pembimbing II, yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan masukannya yang berharga selama proses penyusunan proposal tesis ini.
6. Para penguji proposal tesis, atas kritik dan sarannya untuk perbaikan tesis ini.
7. Para dosen dan staf pengajar Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah memberikan ilmu dan wawasan selama masa studi.
8. Keluarga tercinta, atas doa, dukungan, dan semangat yang selalu menyertai.
9. Rekan-rekan seperjuangan, atas kerja sama, motivasi, dan kebersamaan selama proses penyusunan proposal tesis ini.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan tesis ini, terimakasih atas dukungannya.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan kelemahan dalam penyusunan tesis ini, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan agar tesis ini dapat menjadi lebih baik. Akhir kata penulis mengucapkan banyak terima kasih. Semoga tesis ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu biomedik dan penelitian terkait.

Semarang, 25 Agustus 2025

(Cynthia Kartika Indriastari)

## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Jerawat merupakan penyakit inflamasi pada unit pilosebacea akibat *Cutibacterium acnes* yang memicu peningkatan mediator inflamasi seperti IL-1 serta mempengaruhi proses angiogenesis melalui faktor pertumbuhan vaskular VEGF. Propolis memiliki sifat antiinflamasi dan antibakteri yang berpotensi menurunkan kadar IL-1 serta meningkatkan VEGF untuk mendukung perbaikan jaringan. Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh pemberian serum ekstrak propolis terhadap kadar IL-1 dan VEGF pada mencit jantan model jerawat.

**Metode:** Penelitian eksperimental ini menggunakan desain *post-test only control group* dengan total 25 ekor mencit jantan galur Balb/c yang dibagi menjadi lima kelompok: K1 (kontrol negatif, tanpa induksi dan perlakuan), K2 (kontrol positif, induksi *C. acnes* tanpa perlakuan), K3 (induksi *C. acnes* + basis serum), K4 (induksi *C. acnes* + serum ekstrak propolis 1%), dan K5 (induksi *C. acnes* + serum ekstrak propolis 2%). Perlakuan diberikan secara topikal selama 7 hari. Kadar IL-1 dan VEGF diukur menggunakan metode ELISA.

**Hasil:** Analisis deskriptif pada kadar IL-1 terendah terdapat pada K5 ( $18,38 \pm 2,59$  ng/mL) dan tertinggi pada K1 ( $23,32 \pm 1,02$  ng/mL), sedangkan kadar VEGF terendah pada K2 ( $1550,68 \pm 61,96$  ng/L) dan tertinggi pada K5 ( $2073,06 \pm 82,43$  ng/L). Pada kadar IL-1 data berdistribusi normal (*Shapiro Wilk*) dan pada kadar VEGF data tidak berdistribusi normal. Varians tidak homogen pada kadar IL-1 dan homogen pada kadar VEGF (*Levene's Test*), sehingga digunakan uji *Kruskal Wallis* yang menunjukkan perbedaan bermakna untuk IL-1 ( $p = 0,029$ ) dan VEGF ( $p < 0,001$ ). Uji *Mann Whitney* menunjukkan propolis 1% dan 2% menurunkan IL-1 serta meningkatkan VEGF secara signifikan dibanding kontrol positif, dengan efek terbesar pada dosis 2%.

**Kesimpulan:** Serum ekstrak propolis dapat berpengaruh terhadap penurunan kadar IL-1 dan VEGF pada model jerawat yang dipapar *C.acnes*, menunjukkan propolis berpotensi sebagai alternatif terapi antiinflamasi untuk mengatasi jerawat.

**Kata kunci:** *Cutibacterium acnes*, IL-1, VEGF, propolis, ELISA.

## ABSTRACT

**Background:** Acne is an inflammatory disease of the pilosebaceous unit caused by *Cutibacterium acnes*, which triggers increased inflammatory mediators such as IL-1 and influences VEGF. Propolis possesses anti-inflammatory and antibacterial properties, potentially reducing IL-1 levels and enhancing VEGF expression to support tissue repair. This study aimed to analyze the effect of propolis extract serum on IL-1 and VEGF levels in male mice with an acne model.

**Methods:** This experimental study employed a post-test only control group design involving 25 male Balb/c mice divided into five groups: K1 (negative control, no induction or treatment), K2 (positive control, *C. acnes* induction without treatment), K3 (*C. acnes* induction + serum base), K4 (*C. acnes* induction + 1% propolis extract serum), and K5 (*C. acnes* induction + 2% propolis extract serum). Treatments were administered topically for seven days. IL-1 and VEGF levels were measured using the ELISA method.

**Results:** Descriptive analysis showed the lowest mean IL-1 level in K5 ( $18,38 \pm 2,59$  ng/mL) and the highest in K1 ( $23,32 \pm 1,02$  ng/mL), while the lowest mean VEGF level was in K2 ( $1550,68 \pm 61,96$  ng/L) and the highest in K5 ( $2073,06 \pm 82,43$  ng/L). The Shapiro–Wilk test indicated normal data distribution on IL-1 level and indicated non-normal data distribution for VEGF level, and Levene’s test revealed non-homogeneous on IL-1 level and homogeneous on VEGF level. The Kruskal–Wallis test demonstrated significant differences for both IL-1 ( $p = 0.029$ ) and VEGF ( $p < 0.001$ ). The Mann–Whitney post-hoc test showed that 1% and 2% propolis extract serum significantly reduced IL-1 and increased VEGF levels compared to the positive control, with the greatest effect at the 2% concentration.

**Conclusion:** Propolis extract serum can influence the reduction of IL-1 and VEGF levels in *C. acnes*-induced acne models, indicating the potential of propolis as an alternative anti-inflammatory therapy for acne.

**Keywords:** *Cutibacterium acnes*, IL-1, VEGF, propolis, ELISA.

## DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
PERNYATAAN.....	ii
KATA PENGANTAR .....	v
ABSTRAK.....	vii
<i>ABSTRACT</i> .....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
1.5 Originalitas Penelitian.....	5
HR-1 Mice: A New Inflammatory Acne Mouse Model .....	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1 <i>Acne Vulgaris</i> .....	12
2.1.1 Definisi <i>Acne Vulgaris</i> .....	12
2.1.2 Etiologi <i>Acne Vulgaris</i> .....	12
2.1.3 Klasifikasi <i>Acne Vulgaris</i> .....	13
2.1.4 Patogenesis <i>Acne Vulgaris</i> .....	14
2.1.5 Penanganan <i>Acne Vulgaris</i> .....	16
2.2 Kadar <i>Interleukin-1</i> (IL-1).....	19
2.2.1 Definisi IL-1.....	19

2.2.2	Peran IL-1 dalam <i>Acne Vulgaris</i> .....	21
2.3	<i>Kadar Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)</i> .....	23
2.3.1	Definisi .....	23
2.3.2	Peran VEGF terhadap <i>Acne Vulgaris</i> .....	25
2.5	Faktor-Faktor Eksternal yang Memengaruhi IL-1 dan VEGF .....	28
2.6	Propolis dan Komponen Aktifnya .....	29
2.6.1	Manfaat Propolis .....	30
2.6.2	Aktivitas Antibakteri Propolis .....	33
2.6.3	Propolis dalam Peradangan .....	35
2.6.4	Propolis dalam Penyembuhan Luka .....	38
2.6.5	Serum Ekstrak Propolis .....	39
<b>BAB III</b>	<b>KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS</b> .....	<b>40</b>
3.1	Kerangka Teori .....	40
3.2	Kerangka Konsep .....	43
3.3	Hipotesis .....	43
<b>BAB IV</b>	<b>METODE PENELITIAN</b> .....	<b>44</b>
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian .....	44
4.2	Populasi dan Sampel Penelitian .....	45
4.2.1	Populasi Penelitian .....	45
a.	Kriteria Inklusi .....	46
b.	Kriteria Eksklusi .....	46
c.	Kriteria Drop Out .....	46
4.2.2	Sampel Penelitian .....	47
4.2.3	Cara Pengambilan Sampel Penelitian .....	47
4.3	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional .....	48
4.3.2	Variabel Terikat (Dependen) .....	48
4.3.3	Definisi Operasional .....	48
4.4	Bahan atau Materi Penelitian .....	50
4.4.1.	Bahan .....	50
4.4.2	Peralatan .....	51
4.5	Cara Penelitian dan Alur Penelitian .....	53
4.5.1	Ethical Clearance .....	53
4.5.2	Perolehan Serum Ekstrak Propolis .....	54
4.5.3	Persiapan Hewan Uji .....	54

4.5.4	Induksi <i>Acne Vulgaris</i> .....	54
4.5.5	Perlakuan dengan Serum Propolis .....	55
4.5.6	Pengambilan Sampel .....	55
4.5.	Analisis Sampel .....	56
4.6	Teknik Pengumpulan Data .....	58
4.7	Analisis Data .....	59
4.7.1	Pengolahan Data Awal .....	59
4.7.2	Pengujian Statistik .....	59
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN .....		61
5.1	Hasil Penelitian .....	61
5.1.1	Validasi Model <i>Acne-Like</i> pada Hewan Uji .....	62
5.1.2	Hasil Analisis Kadar IL-1 pada Jaringan Kulit Mencit .....	64
5.1.3	Hasil Analisis Kadar VEGF pada Jaringan Kulit Mencit .....	67
5.2	Pembahasan .....	69
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN .....		76
6.1	Kesimpulan .....	76
6.2	Saran .....	76
DAFTAR PUSTAKA .....		77
LAMPIRAN .....		85



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Jalur inflamasi yang disebabkan oleh <i>C. acnes</i> .....	23
Gambar 2.2 Komposisi Propolis .....	30
Gambar 2.3 Potensi Propolis.....	32
Gambar 2.4 Mekanisme aktivitas propolis terhadap bakteri.....	34
Gambar 2.5 Mekanisme kerja propolis dalam memodulasi peradangan .....	36
Gambar 3.1 Kerangka Teori.....	43
Gambar 3.2 Kerangka Konsep .....	43
Gambar 5.1 Validasi Model Mencit acne-like pada kulit mencit .....	64
Gambar 5.2 Grafik Rerata Kadar IL-1 pada Jaringan Kulit Mencit .....	66
Gambar 5.3 Grafik Rerata Kadar VEGF pada Jaringan Kulit Mencit .....	68



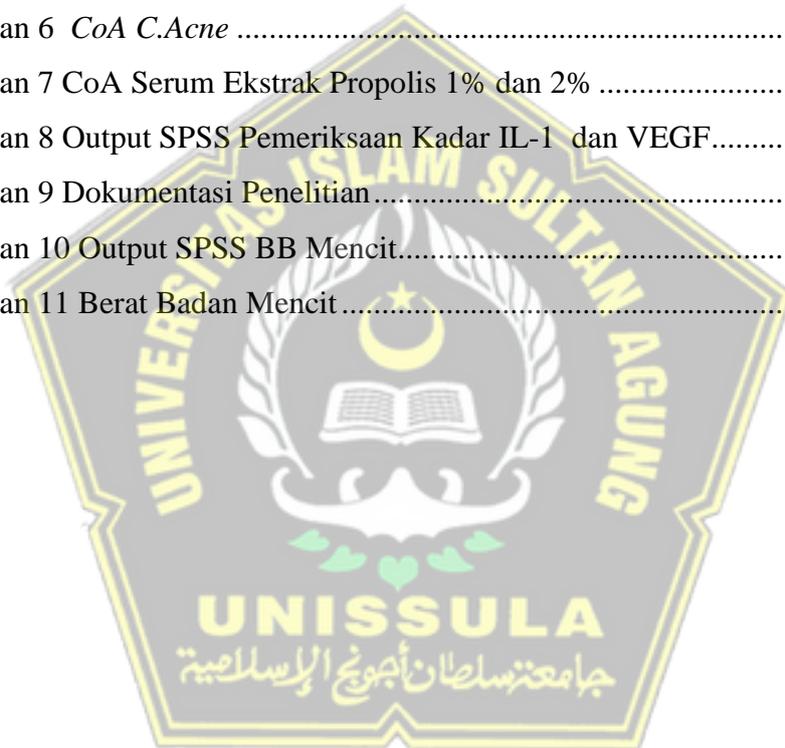
## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.....	5
Tabel 2.1 Klasifikasi derajat acne menurut grading Lehmann .....	14
Tabel 2.2 Algoritma Tata Laksana Akne Vulgaris Rekomendasi Pokja PT AV – INA.....	16
Tabel 5.1 Hasil Rerata Kadar IL-1 pada Jaringan Kulit Mencit .....	65
Tabel 5.2 Hasil Uji Mann-Whitney terhadap Rerata Kadar IL-1.....	66
Tabel 5.3 Hasil Rerata Kadar VEGF pada Jaringan Kulit Mencit.....	67
Tabel 5.4 Hasil Uji Mann-Whitney terhadap Rerata Kadar VEGF .....	68

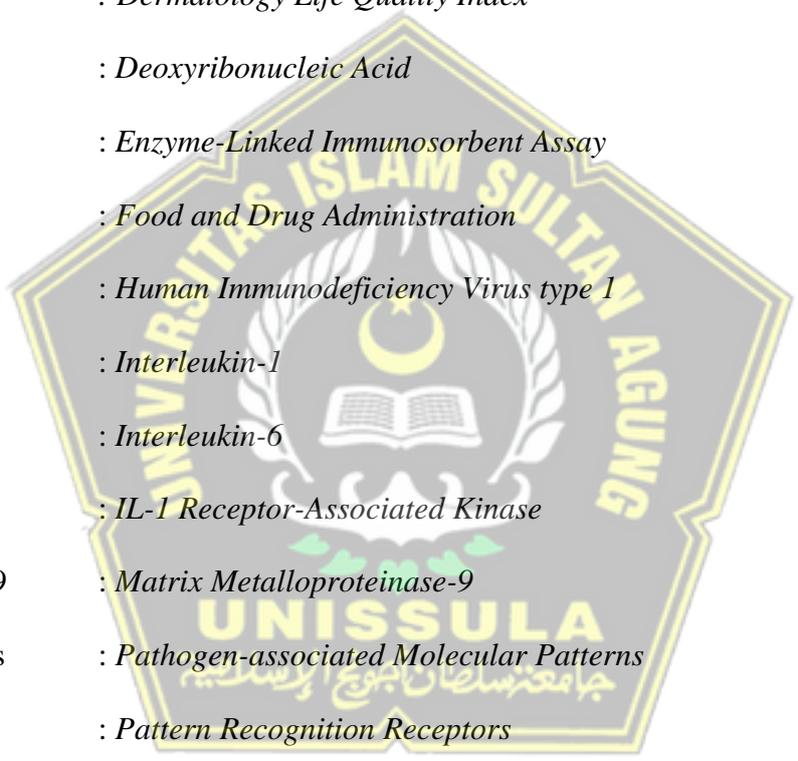


## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Izin Penelitian .....	85
Lampiran 2 Ethical Clearance .....	86
Lampiran 3 Hasil Pemeriksaan Kadar dengan ELISA.....	87
Lampiran 4 <i>MDS Ekstrak Propolis</i> .....	88
Lampiran 5 Spesifikasi Ekstrak Propolis .....	89
Lampiran 6 <i>CoA C.Acne</i> .....	90
Lampiran 7 CoA Serum Ekstrak Propolis 1% dan 2% .....	91
Lampiran 8 Output SPSS Pemeriksaan Kadar IL-1 dan VEGF.....	92
Lampiran 9 Dokumentasi Penelitian.....	99
Lampiran 10 Output SPSS BB Mencit.....	101
Lampiran 11 Berat Badan Mencit.....	102



## DAFTAR SINGKATAN



ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
AV	: <i>Acne Vulgaris</i>
CMCE	: <i>Continuous Micro-Column Extraction</i>
C-RP	: <i>C-Reactive Protein</i>
DPLQI	: <i>Dermatology Life Quality Index</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
FDA	: <i>Food and Drug Administration</i>
HIV-1	: <i>Human Immunodeficiency Virus type 1</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IRAK	: <i>IL-1 Receptor-Associated Kinase</i>
MMP-9	: <i>Matrix Metalloproteinase-9</i>
PAMPs	: <i>Pathogen-associated Molecular Patterns</i>
PRRs	: <i>Pattern Recognition Receptors</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TLR-2	: <i>Toll-Like Receptor 2</i>
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Factor-alpha</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

*Acne Vulgaris* (AV) adalah kondisi inflamasi kronis yang terjadi pada folikel pilosebacea, yang melibatkan penyumbatan pori oleh sebum berlebih, sel kulit mati, dan pertumbuhan bakteri *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*). Tatalaksana AV direkomendasikan menggunakan pendekatan multimodalitas, yaitu beberapa kombinasi agen topikal seperti antibiotik, benzoil peroksida atau retinoid untuk jerawat tingkat keparahan sedang untuk mengurangi peradangan dan mempercepat pengelupasan kulit. Hal ini dilakukan untuk mengurangi resiko resistensi antibiotik. Antibiotik topikal yang paling sering digunakan adalah klindamisin dan eritromisin. Namun data terakhir menunjukkan adanya peningkatan resistensi *C.acnes* terhadap klindamisin dan eritromisin. Angka prevalensi yang tinggi terdapat di negara-negara Eropa, dengan resistensi eritromisin/klindamisin berkisar dari 45% hingga 91% dan resistensi tetrasiklin dari 5% menjadi 26,4%.<sup>1</sup> Sedangkan benzoil peroksida dan retinoid topikal dapat menyebabkan efek samping seperti iritasi, kulit kering, dan pengelupasan.

AV dapat menimbulkan dampak yang signifikan, baik secara klinis maupun psikologis, jika tidak ditangani dengan baik. Jerawat yang tidak terkelola dengan baik dapat meninggalkan bekas yang sulit dihilangkan, seperti jaringan parut atau hiperpigmentasi, yang dapat memengaruhi penampilan fisik. Manipulasi jerawat yang tidak tepat, seperti memencet, menggaruk atau penggunaan *make-up*, juga dapat menyebabkan infeksi sekunder yang memperburuk kondisi kulit dan

memperpanjang waktu penyembuhan. Dari sisi psikologis, terutama pada remaja dan dewasa muda, AV dan komplikasi yang menyertainya sering kali menyebabkan penurunan kepercayaan diri, kecemasan, dan depresi. Dalam beberapa studi, sekitar 29,2% mahasiswa di Indonesia melaporkan mengalami tingkat kecemasan dari ringan hingga berat akibat jerawat dan jaringan parut yang disebabkan, dan di luar negeri, beberapa penelitian menunjukkan hubungan antara AV dengan isolasi sosial, kecemasan berlebih, dan bahkan pikiran bunuh diri. Oleh karena itu, penanganan yang efektif dan tepat waktu sangat diperlukan untuk mencegah dampak jangka panjang baik terhadap kondisi fisik maupun kesehatan mental penderita.<sup>2,3</sup>

Propolis adalah zat yang dihasilkan oleh lebah dari campuran resin tanaman dan lilin lebah, memiliki potensi besar dalam mengobati AV karena sifat antimikroba, antiinflamasi, dan antioksidannya. Propolis juga mempercepat penyembuhan luka dan meningkatkan perlindungan kulit, menjadikannya pilihan yang lebih nyaman dan alami dibandingkan dengan pengobatan konvensional, khususnya bagi mereka yang sensitif terhadap obat-obatan kimia atau khawatir tentang efek samping jangka panjang.<sup>4,5</sup> Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak propolis efektif melawan *C.acnes*, penyebab utama jerawat, serta bakteri lain seperti *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas sp.*. Selain itu, propolis terbukti dapat mengurangi peradangan dengan menghambat jalur NF- $\kappa$ B dan MAPK, serta menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi seperti IL-1 dan TNF- $\alpha$ . Beberapa penelitian juga melaporkan bahwa propolis memiliki efek mempercepat penyembuhan luka. Propolis terbukti meningkatkan ekspresi

*Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) pada fase proliferasi. Temuan ini memberikan implikasi penting dalam konteks jerawat, di mana inflamasi yang berkepanjangan sering berujung pada penyembuhan yang lambat dan meningkatkan risiko terbentuknya jaringan parut pasca-jerawat. Dengan adanya modulasi VEGF oleh propolis, diharapkan proses perbaikan jaringan pada lesi jerawat dapat berlangsung lebih optimal, sehingga tidak hanya mempercepat resolusi inflamasi, tetapi juga berpotensi mencegah komplikasi jangka panjang berupa jaringan parut.

Penelitian juga menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak propolis, semakin luas zona hambat yang terbentuk terhadap mikroorganisme, yang menunjukkan efektivitasnya dalam mengurangi lesi inflamasi pada AV. Serum propolis dipilih dalam penelitian ini karena viskositasnya yang rendah dan kandungan zat aktif yang tinggi, sehingga lebih mudah diserap oleh kulit. Mengingat meningkatnya resistensi antibiotik terhadap *C. acnes*, propolis menjadi alternatif yang menjanjikan dalam terapi AV. Propolis dapat dijadikan pilihan sebagai terapi untuk *Acne Vulgaris* karena prevalensi *C. acnes* resisten antibiotik bervariasi di berbagai belahan dunia. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas serum ekstrak propolis dalam menurunkan kadar IL-1 dan VEGF pada model mencit yang diinduksi *C. acnes*, dengan harapan dapat memberikan dasar ilmiah untuk pengembangan produk dermatologis berbasis propolis.<sup>6</sup>

## **1.2 Rumusan Masalah**

Apakah serum ekstrak propolis berpengaruh terhadap kadar IL-1 dan VEGF pada mencit jantan sebagai model jerawat yang dipapar *Cutibacterium acnes*?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Untuk mengetahui pengaruh serum ekstrak propolis terhadap kadar (IL-1) dan VEGF pada mencit jantan sebagai model jerawat yang dipapar *Cutibacterium acnes*.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

- 1) Menganalisis perbedaan rerata kadar IL-1 pada mencit jantan sebagai model jerawat yang dipapar *Cutibacterium acnes* antar kelompok perlakuan dengan serum ekstrak propolis.
- 2) Menganalisis perbedaan rerata VEGF pada mencit jantan sebagai model jerawat yang dipapar *Cutibacterium acnes* antar kelompok perlakuan dengan serum ekstrak propolis.
- 3) Membandingkan pengaruh serum ekstrak propolis konsentrasi 1% dan 2% dalam memodulasi kadar IL-1 dan VEGF pada mencit jantan sebagai model jerawat yang dipapar *Cutibacterium acnes*.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Teoritis**

Memberikan informasi dan memperkuat dasar ilmiah untuk penelitian lebih lanjut terkait pengaruh serum ekstrak propolis terhadap kadar IL-1 dan

VEGF pada mencit jantan sebagai model jerawat yang dipapar *Cutibacterium acnes*.

#### 1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan pengetahuan dan tambahan referensi yang bermanfaat bagi praktisi kesehatan, karena dapat memberikan wawasan baru terkait potensi serum ekstrak propolis sebagai terapi jerawat alami, yang dapat mengurangi ketergantungan pada terapi kimia yang berpotensi menyebabkan efek samping.

#### 1.5 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

No	Peneliti dan Tahun	Judul Penelitian	Metode	Hasil Penelitian
1.	Sahlan, M <i>et al</i> (2021) <sup>7</sup>	The cytotoxic and anti-inflammatory potential of <i>Tetragonula sapiens</i> propolis from Sulawesi on raw 264.7 cell lines	<i>in vitro</i>	Propolis Indonesia dari <i>T. sapiens</i> memiliki sifat anti-inflamasi yang berkaitan dengan penghambatan produksi oksida nitrat oleh makrofag. Hasil uji antiinflamasi menunjukkan bahwa propolis 120 µg/mL memiliki sifat antiinflamasi yang dibuktikan dengan kadar TNF-α sebesar 304,28 ± 30,25 pg/mL, iNOS sebesar 5,42 ± 0,82 ng/mL, dan NO sebesar 101,09 ± 1,49 µmol/L.

2.	Naim, N <i>et al</i> (2022) <sup>8</sup>	Antimicrobial Activity of Malaysian Apis mellifera Propolis against Propionibacteriu m acnes	<i>in vitro</i>	Ekstrak etanolik (EEP) Malaysia menunjukkan sifat antimikroba yang menjanjikan terhadap <i>P. acnes</i> . Skrining antimikroba menunjukkan semua ekstrak memiliki aktivitas antimikroba terhadap <i>P. acnes</i> . Zona inhibisi pada konsentrasi 20 mg/ml berada dalam kisaran 16 mm hingga 24 mm yang lebih besar daripada kontrol positif (10% benzoil peroksida) (15 mm).
3.	Wulandari 1, Dyah Tantri <i>et al</i> (2023) <sup>9</sup>	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Propolis dari Lebah Kelulut (Heterotrigona itama) terhadap Bakteri Pseudomonas aeruginosa dan Staphylococcus aureus	<i>in vitro</i>	Ekstrak metanol propolis dari lebah kelulut (Heterotrigona itama) menunjukkan aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap dua bakteri patogen, yaitu <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (gram negatif) dan <i>Staphylococcus aureus</i> (gram positif). Pada konsentrasi 50%, propolis menghasilkan zona hambat sebesar 12,25 mm untuk <i>P. aeruginosa</i> dan 12,05 mm untuk <i>S. aureus</i>
4.	Wattanuru k, D &	Antioxidant and Anti-acne	<i>In Vitro</i>	Ekstrak propolis memiliki MIC sebesar 62,5 µg/mL

	Matintaran gson,N (2024) <sup>10</sup>	Activities of Stingless Bee Honey and Propolis Extracta		dan MBC sebesar 125 µg/mL terhadap <i>Cutibacterium acnes</i> , yang menandakan efektivitas antimikroba yang menjanjikan bahkan pada konsentrasi rendah.
5.	Arief Adi Saputro <i>et al</i> (2021) <sup>11</sup>	Propolis Extracted Using CMCE Decreases TNF-α and C-Reactive Protein level of CCl4-Induced Liver Damage in Rats	<i>In Vivo</i>	CMCE propolis dapat menurunkan kadar TNF-α & CRP. Pada dosis 14,4 mg/g, propolis ini paling efektif dalam menurunkan kadar TNF-α dan C-reactive protein (CRP)
6.	Balderas-Cordero <i>et al</i> (2023) <sup>12</sup>	Anti-Inflammatory and Histological Analysis of Skin Wound Healing through Topical Application of Mexican Propolis	<i>in vivo</i>	Aplikasi topikal ekstrak propolis dari Chihuahua (ChEEP) memiliki potensi sebagai agen penyembuhan luka yang efektif. ChEEP mempercepat kontraksi luka, mengurangi inflamasi, meningkatkan kekuatan luka, dan memperbaiki struktur kolagen tanpa menunjukkan

				efek toksik pada konsentrasi 10%
7.	El-Kersh <i>et al</i> (2024) <sup>13</sup>	In vitro and in vivo burn healing study of standardized propolis: Unveiling its antibacterial, antioxidant and antiinflammatory actions in relation to its phytochemical profiling	<i>In vitro</i> dan <i>in vivo</i>	Propolis menunjukkan potensi besar dalam mempercepat penyembuhan luka bakar, baik pada uji in vitro maupun in vivo. Efek penyembuhan dipengaruhi oleh kombinasi aktivitas antibakteri, antioksidan, dan anti-inflamasi, yang terbukti secara signifikan meningkatkan ekspresi biomolekul penyembuh luka seperti TLR4, IL-6, dan TNF- $\alpha$ . Menunjukkan kapasitas antioksidan yang tinggi dengan nilai IC <sub>50</sub> mencapai 46,52 $\pm$ 1,25 dan 11,74 $\pm$ 0,26 $\mu$ g/mL, menandakan kemampuannya menangkap radikal bebas (radical scavenging activity), yang merupakan salah satu indikator efisiensi perlindungan sel terhadap stres oksidatif

8.	Mozzarell <i>o et al</i> (2018) <sup>14</sup>	Treatment of acne with a combination of propolis, tea tree oil, and Aloe vera compared to erythromycin cream: two double-blind investigations	<i>in vivo</i>	Krim berbahan alami (PTAC) lebih efektif dalam mengurangi keparahan jerawat dan bekas kemerahan dibandingkan eritromisin dalam menurunkan keparahan jerawat (66,7%) dan total lesi (63,7%) dengan efek samping minimal setelah 15 dan 30 hari pengobatan.
9.	Wulandari <i>et al</i> (2024) <sup>15</sup>	The potential of propolis extract gel Kabanjahe Kelulut bee as an anti-inflammatory agent in periodontal treatment: eksperimental laboratory study	<i>In vivo</i>	Terdapat efektivitas penggunaan gel ekstrak propolis lebah Kelulut Kabanjahe terhadap jumlah makrofag pada mencit yang diinduksi periodontitis dan gel ekstrak propolis 70% memiliki efektivitas terbaik sebagai anti-inflamasi pada perawatan periodontal.
10	Ayhan, E., Aslan, Ö., & Araç, E. (2020) <sup>16</sup>	Effect of isotretinoin (13-cis-retinoic acid) on levels of soluble VEGF receptors (sVEGFR1, sVEGFR2, sVEGFR3) in	<i>In vivo</i>	Pada <i>Acne Vulgaris</i> , VEGF berperan dalam angiogenesis dan inflamasi lesi. Isotretinoin terbukti menurunkan kadar sVEGFR1 (p=0,038) dan meningkatkan sVEGFR3 (p=0,021) tanpa perubahan signifikan pada sVEGFR2

	patients with <i>Acne Vulgaris</i>		(p=0,519), yang diduga memodulasi ketersediaan VEGF-A, VEGF-C, dan VEGF-D sehingga menekan proses angiogenesis dan inflamasi penyebab keparahan jerawat.
11.	Jang et al., 2015 <sup>17</sup>	HR-1 Mice: A New Inflammatory Acne Mouse Model	<i>In vivo</i> Ekspresi IL-1 muncul pada semua strain tikus, namun HR-1 dan BALB/c menunjukkan ekspresi TLR-2 dan LL-37 yang lebih tinggi dibanding VDR k/o dan SCID.

Berbagai penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa propolis memiliki efek antiinflamasi dan antibakteri, baik melalui penurunan sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  maupun penghambatan pertumbuhan *C.acnes*. Namun, sebagian besar studi tersebut masih terbatas pada pengujian *in vitro* atau menggunakan model inflamasi umum yang belum merepresentasikan secara spesifik patofisiologi *Acne Vulgaris*. Penelitian *in vivo* yang secara langsung mengevaluasi biomarker khas jerawat, IL-1 dan VEGF, masih sangat jarang ditemukan. Selain itu, belum terdapat studi yang menggunakan propolis dalam bentuk sediaan serum topikal yang ditujukan khusus untuk model jerawat berbasis paparan *C. acnes* pada mencit . Oleh karena itu, penelitian ini menawarkan nilai kebaruan dengan mengombinasikan model jerawat *in vivo* berbasis *C. acnes*, evaluasi biomarker spesifik (IL-1 dan VEGF), serta formulasi propolis dalam

bentuk serum yang memungkinkan penetrasi bahan aktif secara lebih optimal. Pendekatan ini diharapkan dapat mengisi kesenjangan literatur terkait pemanfaatan bahan alami sebagai terapi alternatif *Acne Vulgaris* yang lebih aman dan efektif, sekaligus membuka peluang pengembangan produk dermatologis berbasis bukti ilmiah.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 *Acne Vulgaris***

##### **2.1.1 Definisi *Acne Vulgaris***

*Acne Vulgaris* adalah kelainan peradangan kronis pada kulit umum pada unit pilosebacea. Kondisi ini biasanya bermanifestasi dengan papula, pustula, atau nodul terutama di wajah, meskipun dapat juga memengaruhi lengan atas, badan, dan punggung. Patogenesis *Acne Vulgaris* bersifat kompleks dan multifaktor yang melibatkan interaksi beberapa faktor yang akhirnya mengarah pada pembentukan lesi primernya, yang dikenal sebagai komedo.<sup>18</sup>

*Acne Vulgaris* memengaruhi sekitar 9% populasi di seluruh dunia (sekitar 85% individu berusia 12-24 tahun, dan sekitar 50% pasien berusia 20-29 tahun). Proses menyembuhkan AV dapat menimbulkan sekuele dapat menyebabkan hiperpigmentasi, eritema pasca inflamasi, dan jaringan parut fisik permanen, berdampak negatif pada kualitas hidup dan citra diri, serta dikaitkan dengan peningkatan tingkat kecemasan, depresi, dan keinginan bunuh diri.<sup>19</sup>

##### **2.1.2 Etiologi *Acne Vulgaris***

AV berkembang dari mikrokomedo menjadi lesi noninflamasi menjadi komedo yang kemudian berlanjut ke lesi inflamasi seperti, papul, pustul atau nodul.<sup>20</sup>

Faktor-faktor yang diduga berkontribusi terhadap *Acne* meliputi:<sup>18,21</sup>

- a) Paparan sinar matahari berlebih.

- b) Gangguan endokrin, seperti sindrom ovarium polikistik, dan bahkan kehamilan. Munculnya Acne sebelum menstruasi tampaknya mengikuti edema duktus pilosebacea. Hal ini terjadi pada 70% pasien wanita.
- c) Faktor genetik secara signifikan memengaruhi proporsi asam lemak bercabang yang ditemukan dalam sebum, dengan estimasi heritabilitas berkisar antara 50% hingga 90%.
- d) Stres psikologis dikaitkan dengan peningkatan keparahan jerawat, mungkin dengan merangsang hormon stres.
- e) Resistensi insulin juga mungkin memiliki peran penting dalam jerawat, karena individu dengan resistensi insulin memiliki peningkatan kadar IGF, yang terkait dengan peningkatan ekskresi sebum wajah. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa peningkatan konsumsi susu dan pola makan dengan kadar glikemik tinggi dikaitkan dengan Acne pada masa remaja. Hal ini dapat dikaitkan dengan kandungan faktor pertumbuhan mirip insulin (IGF) dan komponen hormonal alami yang tinggi dalam susu.
- f) Kosmetik berbahan dasar minyak.

### 2.1.3 Klasifikasi *Acne Vulgaris*

Klasifikasi *Acne Vulgaris* (AV) dapat dibedakan berdasarkan tingkat keparahan klinis dan jenis lesi. Berdasarkan klasifikasi menurut Lehmann yang dijelaskan pada tabel 2.1, keparahan klinis AV dibagi menjadi ringan, sedang, dan berat. Klasifikasi ini mempertimbangkan jumlah komedo, lesi inflamasi (papul, pustul), nodul, dan kista.<sup>22,23</sup>

**Tabel 2.1** Klasifikasi derajat acne menurut grading Lehmann<sup>24</sup>

	<b>Komedo</b>	<b>Pustul</b>	<b>Kista</b>	<b>Total</b>
<b>Jerawat Ringan</b>	< 20	< 15	0	< 30
<b>Jerawat Sedang</b>	20–100	15 – 50	< 5	30–125
<b>Jerawat Parah</b>	>100	> 50	> 5	> 125

#### **2.1.4 Patogenesis *Acne Vulgaris***

Patogenesis *Acne Vulgaris* melibatkan interaksi kompleks dari 4 faktor utama.<sup>25–27</sup>

1. Hiperproliferasi epidermal folikular : berperan dalam pembentukan mikrokomedo. Epitel di bagian atas folikel rambut, yaitu di infundibulum, menjadi hiperkratotik disertai dengan peningkatan kohesi keratinosit menyebabkan obstruksi pada ostium folikel. Selanjutnya obstruksi ini menyebabkan penumpukan keratin, serum, dan peningkatan aktivitas bakteri yang mengakibatkan dilatasi bagian atas folikel rambut. Hal ini yang menyebabkan mikrokomedo. Kemudian beberapa faktor diduga berperan dalam hiperproliferasi dan peningkatan kohesi adalah stimulasi kolagen, penurunan asam linoleat, peningkatan aktivitas IL-1 dan efek dari *C.acnes*. Dihidrotosteron (DHT) merupakan androgen poten yang berperan pada patogenesis AV, terutama menstimulasi proliferasi keratinosit folikular.

2. **Produksi Sebum Berlebih:** Hormon androgen memicu kelenjar sebaceous untuk menghasilkan sebum secara berlebihan. Kelebihan sebum menyediakan lingkungan yang mendukung pertumbuhan bakteri dan peradangan. Komponen sebum adalah trigliserida yang dipecah oleh *C.acnes* menjadi asam lemak bebas yang meningkatkan kolonisasi *C.acnes* dan menginduksi inflamasi.
3. **Kolonisasi *C.acnes*:** Bakteri gram positif yang bersifat anaerob ini secara normal ada di kulit, tetapi dalam kondisi *Acne Vulgaris*, jumlahnya meningkat. *C.acnes* menghasilkan enzim lipase yang mengubah trigliserida memicu respons inflamasi. Antigen dari *C.acnes* juga merangsang pembentukan antibodi, yang meningkatkan peradangan melalui produksi mediator proinflamasi.
4. **Inflamasi dan respon imun:** Reaksi inflamasi terjadi ketika *C.acnes* mengaktifkan sistem kekebalan tubuh, menyebabkan pelepasan sitokin proinflamasi seperti IL-12, IL-8, dan *tumor necrosis factor*. Proses ini menyebabkan infiltrasi sel imun ke dalam folikel, yang menyebabkan pembentukan papul dan pustul.

Faktor-faktor lain seperti paparan sinar ultraviolet, stres, obesitas, merokok, penggunaan kosmetik, dan obat-obatan tertentu, penyakit endokrin, kerusakan *skin barrier* serta genetik. Pengaruh asupan makan atau diet pada AV telah banyak diteliti. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa makanan dengan kadar indeks glikemik tinggi dapat memperberat AV melalui

peningkatan *insulin like growth factor* (IGF)-1 yang meningkatkan aktivitas androgen dan memodulasi sebosit.

### 2.1.5 Penanganan *Acne Vulgaris*

**Tabel 2.2** Algoritma Tata Laksana Akne Vulgaris Rekomendasi Pokja PT AV – INA

	RINGAN	SEDANG	BERAT
<b>AGEN TOPIKAL</b>			
<b>Lini 1</b>	Rt, AB <sup>b</sup> , BP, atau kombinasi ketiganya	AB <sup>b</sup> , BP	
<b>Lini 2</b>	AS <sup>a</sup> , AA <sup>a</sup>		
<b>Lini 3</b>	Dapson, Klas koteron <sup>c</sup>		
<b>ANTIBIOTIK SISTEMIK</b>			
<b>Lini 1</b>		Dox, Tetra, Mino, Sare <sup>e</sup> , Ea <sup>e</sup>	
<b>Lini 2</b>		Azitro <sup>e</sup> , Levo	
<b>Lini 3</b>		Dapson, Roks, TMP-SMX, Klinda <sup>a</sup>	
<b>TERAPI HORMONAL DAN ISOTRETINOIN</b>			Iso <sup>d</sup> Pada kondisi tertentu <sup>d</sup> dan memperhatikan kontraindikasi: KOK, Spiro, GKS

<b>MODALITAS TAMBAHAN</b>	ELA, PK	ELA, KIL, PK, terapi sinar	KIL, PK
<b>TERAPI KOMPLEMENTER, ALTERNATIF, &amp; DIET</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agen botani atau berasal dari tanaman, dan vitamin</li> <li>• Diet dengan beban glikemik rendah</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agen botani atau berasal dari tanaman, dan vitamin</li> <li>• Diet dengan beban glikemik rendah</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agen botani atau berasal dari tanaman, dan vitamin</li> <li>• Diet dengan beban glikemik rendah</li> </ul>
<b>DERMOKOSMETIK</b>	PW, Mois, PS, KL, AM, AI, TS, Kamuf atau kombinasi dari berbagai dermokosmetik	PW, Mois, PS, KL, AM, AI, TS, Kamuf atau kombinasi dari berbagai dermokosmetik	PW, Mois, PS, KL, AM, AI, TS, Kamuf atau kombinasi dari berbagai dermokosmetik

Keterangan:

- Dapat diberikan pada wanita hamil
- Dapat diberikan pada wanita hamil jika digunakan secara lokal dan dalam waktu singkat
- Belum tersedia di Indonesia
- Diindikasikan untuk akne yang disertai gejala hiperandrogenisme
- Belum mendapat izin edar dari BPOM

### 2.1.6 Agen Topikal untuk Terapi Akne Vulgaris

Terapi topikal merupakan pilihan lini pertama dalam penanganan akne vulgaris ringan hingga sedang. Pemilihan agen topikal disesuaikan dengan derajat keparahan jerawat, jenis lesi (komedon, papul, pustul), serta toleransi kulit pasien.

#### 1. Retinoid Topikal:

Retinoid seperti tretinoin, adapalen, dan tazarotene berfungsi untuk mempercepat pergantian sel kulit dan mencegah penyumbatan folikel, sehingga efektif untuk lesi non-inflamasi (komedo). Retinoid juga memiliki efek antiinflamasi ringan.

#### 2. Antibiotik Topikal:

Klindamisin dan eritromisin digunakan untuk menghambat pertumbuhan *Cutibacterium acnes* dan mengurangi peradangan. Kedua antibiotik ini paling sering digunakan dalam terapi jerawat. Namun, dalam beberapa decade data menunjukkan peningkatan resistensi *C.acnes* terhadap antibiotik ini. Maka penggunaan antibiotik topikal sebagai monoterapi tidak direkomendasikan karena berisiko menimbulkan resistensi antibiotik.

#### 3. Benzoyl Peroksida (BP):

Merupakan agen antimikroba yang bekerja tanpa menimbulkan resistensi. Sering digunakan sebagai monoterapi untuk jerawat ringan atau dikombinasikan dengan antibiotik topikal atau retinoid. Penggunaan BP dapat menimbulkan efek samping misalnya sensasi terbakar, kulit kering, eritema, nyeri, deskuamasi, dan iritasi.

#### 4. Asam Azelat:

Memiliki sifat antimikroba dan komedolitik, serta dapat mencerahkan hiperpigmentasi pasca-inflamasi. Cocok untuk kulit sensitif atau pasien yang tidak toleran terhadap retinoid.

#### 5. Asam Salisilat:

Sebagai keratolitik ringan, asam salisilat membantu membuka pori yang tersumbat

dan mengurangi komedo. Namun, efektivitasnya lebih rendah dibandingkan retinoid.

#### 6. Kombinasi Produk Topikal:

Saat ini tersedia berbagai formulasi kombinasi seperti adapalene dengan BPO atau klindamisin dengan BPO yang meningkatkan kepatuhan pasien dan mengurangi risiko resistensi.

### 2.2 Kadar *Interleukin-1* (IL-1)

#### 2.2.1 Definisi IL-1

*Interleukin-1* adalah sitokin dengan efek inflamasi dan penguatan imun yang kuat, yang sebagian besar diproduksi oleh makrofag selama reaksi defensif. Pada mamalia, IL-1 adalah superfamili dari sebelas protein yang secara struktural serupa, yang semuanya terlibat dalam inflamasi atau pengendaliannya, yang sebagian besar bekerja melalui pengikatan ke reseptor spesifik pada membran plasma sel target. Reseptor IL-1 juga merupakan famili dari sepuluh protein transmembran yang secara struktural serupa yang berkumpul dalam heterokompleks. Peran fisiologis sitokin famili IL-1 tampaknya terkait dengan pengembangan imunitas adaptif pada vertebrata selain efek imun/inflamasi bawaannya. Kami akan membahas mengapa IL-1 berkembang pada vertebrata dan apa peran fisiologisnya, sebagai dasar untuk memahami kapan dan bagaimana ia dapat terlibat dalam inisiasi dan pembentukan patologi.<sup>28</sup>

*Interleukin-1* manusia diidentifikasi secara molekuler pada tahun 1984 sebagai faktor tunggal yang terutama diproduksi oleh leukosit (khususnya monosit

dan makrofag) yang bertanggung jawab untuk banyak fungsi terkait peradangan yang terjadi selama reaksi host terhadap infeksi dan kejadian stres lainnya.<sup>28</sup>

*Interleukin-1* bertanggung jawab untuk induksi demam (awalnya digambarkan sebagai "pirogen endogen"), sehingga berkontribusi untuk menciptakan lingkungan yang tidak menguntungkan bagi mikroorganisme infeksius dan memfasilitasi fungsi limfosit (yang pada mamalia lebih jelas pada suhu di atas 37 ° C). Selain itu, ia memperkuat proliferasi limfosit B dan T terhadap antigen/mitogen, menstimulasi neutrofilia dan protein fase akut, menginduksi produksi enzim proteolitik dan prostaglandin oleh fibroblas, kondrosit, dan sel-sel lain, meningkatkan ekspresi dan produksi kemokin (IL-8, MCP-1) dan sitokin inflamasi (TNF $\alpha$ , IL-6, IL-1), menginduksi produksi ROS dan NO, menyebabkan redistribusi zinc dan zat besi dalam jaringan dan mengatur kortikosteroid dan homeostasis glukosa, dan merupakan adjuvan poten dari respons antibodi spesifik antigen *in vivo*.<sup>28</sup>

Dengan demikian, IL-1 tampaknya berkontribusi pada respons defensif dengan bertindak pada berbagai tingkatan, yaitu dengan berpartisipasi langsung pada respons inflamasi (produksi enzim degradasi dan molekul toksik), dengan memperkuatnya (peningkatan suhu tubuh, produksi faktor inflamasi, perekrutan sel efektor, redistribusi nutrisi dan hormon) dan akhirnya dengan mengaktifkan/memperkuat respons limfosit secara non-spesifik tetapi langsung. Gangguan substansial pada homeostasis yang disebabkan oleh aktivasi IL-1 memerlukan sistem kontrol yang kompleks dan terkoordinasi, yang dapat menghambat efek IL-1 pada berbagai tingkatan dan meredam aktivitasnya setelah

reaksi inflamasi defensif berakhir. Selain itu, kita juga harus mempertimbangkan bahwa IL-1 bukanlah molekul tunggal melainkan superfamili sitokin yang mengatur silang secara struktural dan fungsional. <sup>28</sup>

### 2.2.2 Peran IL-1 dalam *Acne Vulgaris*

Proses inflamasi memainkan peran penting dalam patogenesis *acne vulgaris* (AV). Aktivasi respon imun diawali oleh kolonisasi *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) pada lingkungan kaya lipid di unit pilosebacea. *C. acnes* menghasilkan berbagai faktor virulensi seperti lipase, protease, dan lipoprotein yang berfungsi memecah trigliserida menjadi asam lemak bebas dan produk oksidatif lipid. Produk tersebut bersifat proinflamasi sehingga memicu aktivasi reseptor pengenalan pola (*Pattern Recognition Receptors/PRRs*) pada keratinosit, sebosit, dan sel imun.<sup>29,30</sup> Beberapa reseptor yang berperan dalam pengenalan antigen *C. acnes* antara lain *Toll-like receptor* (TLR) 2, TLR4, TLR9, CD36, dan PAR-2. Aktivasi reseptor-reseptor ini menginduksi jalur pensinyalan melalui adaptor MyD88, yang selanjutnya mengaktifasi jalur MAPK dan NF- $\kappa$ B. Aktivasi tersebut menyebabkan transkripsi berbagai sitokin proinflamasi, termasuk interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, IL-8, IL-12, TNF- $\alpha$ , GM-CSF, dan TGF- $\beta$ .<sup>29,30</sup>

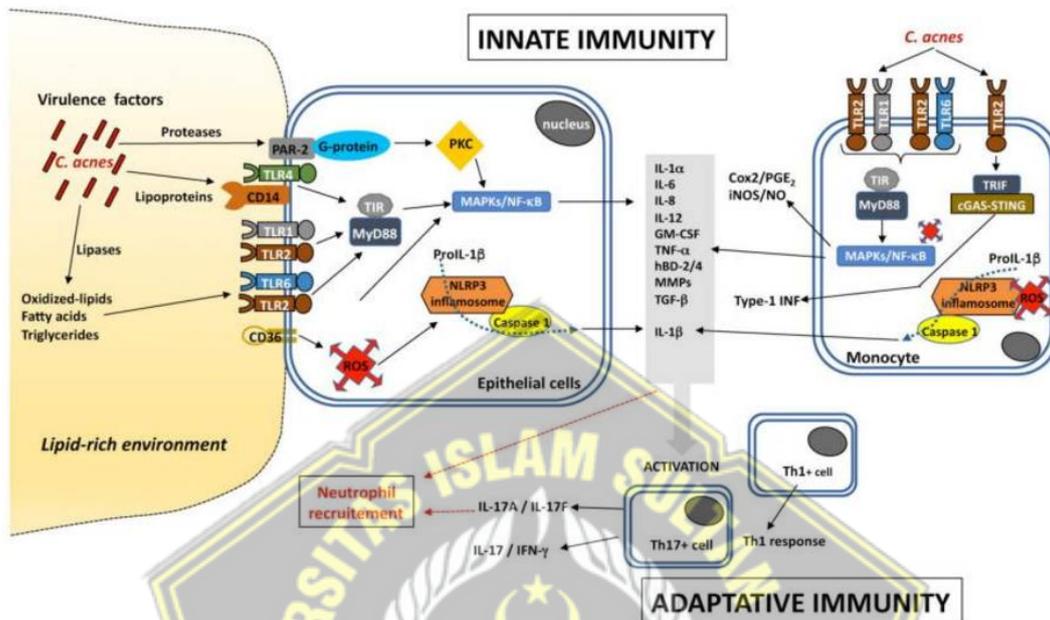
Di antara berbagai mediator proinflamasi tersebut, IL-1 berperan penting sebagai mediator inflamasi. IL-1 terdiri dari dua isoform utama, yaitu IL-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ , namun sebagian besar penelitian menunjukkan bahwa IL-1 $\beta$  merupakan bentuk yang paling dominan terdeteksi dalam lesi jerawat. Oleh karena itu, dalam pembahasan ini istilah IL-1 digunakan untuk merujuk terutama pada aktivitas IL-1 $\beta$ , sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 2.1. IL-1 $\beta$  dilepaskan dari makrofag,

keratinosit, dan sebosit, serta bertindak sebagai mediator awal inflamasi baik akut maupun kronis. Sintesisnya terjadi dalam bentuk tidak aktif (pro-IL-1 $\beta$ ) dan kemudian diproses oleh caspase-1 menjadi bentuk aktif. Aktivasi caspase-1 bergantung pada pembentukan inflammasome NLRP3, suatu kompleks multiprotein sitoplasmik yang dipicu oleh berbagai sinyal bahaya, termasuk PAMPs dan DAMPs, serta toksin bakteri. Aktivasi inflammasome inilah yang menjelaskan bagaimana paparan *C. acnes* dapat meningkatkan produksi IL-1 $\beta$  pada sel monosit maupun epitel.<sup>31,32</sup>

Pelepasan IL-1 selanjutnya menstimulasi pelepasan mediator lain, seperti IL-8, yang berperan penting dalam rekrutmen neutrofil ke area folikel yang terinfeksi. Neutrofil yang bermigrasi kemudian menghasilkan Reactive Oxygen Species (ROS) serta enzim proteolitik yang menyebabkan kerusakan dinding folikel. Pecahnya folikel memungkinkan *C. acnes* untuk keluar dari unit pilosebacea dan berinteraksi dengan infiltrat sel imun di sekitar folikel, sehingga memperburuk inflamasi peri-folikular. Kondisi ini menjadikan jerawat tampak sebagai lesi inflamasi yang kaya neutrofil.<sup>32</sup>

Respon inflamasi yang dipicu oleh *C. acnes* juga berperan dalam transisi ke arah imunitas adaptif. Sitokin proinflamasi seperti IL-1 $\beta$ , IL-6, dan IL-23 mendorong diferensiasi sel T helper ke arah Th17, sedangkan IL-12 mengarahkan ke diferensiasi sel Th1. Aktivasi kedua subset sel T ini memperkuat inflamasi: sel Th1 menghasilkan interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) yang meningkatkan respon makrofag, sementara sel Th17 menghasilkan IL-17A dan IL-17F yang semakin meningkatkan

rekrutmen neutrofil. Hal ini membentuk lingkaran inflamasi yang berkelanjutan dan memperparah kerusakan jaringan.<sup>32</sup>



**Gambar 2.1** Jalur inflamasi yang disebabkan oleh *C. acnes*.

## 2.3 Kadar Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

### 2.3.1 Definisi

*Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) merupakan glikoprotein penting yang berperan dalam regulasi angiogenesis, yaitu proses pembentukan pembuluh darah baru dari vaskulatur yang telah ada. VEGF terutama disintesis oleh sel endotel, keratinosit, makrofag, dan fibroblas sebagai respons terhadap rangsangan inflamasi dan hipoksia jaringan. Pada kondisi inflamasi kronis seperti AV, kadar VEGF diketahui meningkat secara signifikan, baik secara lokal di jaringan kulit maupun sistemik dalam sirkulasi darah.

*Vascular Endothelial Growth Factor* berikatan dengan reseptornya, yaitu VEGFR-1 dan VEGFR-2 yang terdapat pada permukaan sel endotel. Aktivasi jalur sinyal VEGF menstimulasi proliferasi, migrasi, dan diferensiasi sel endotel, sehingga terbentuk pembuluh darah baru pada area yang sedang membutuhkan suplai oksigen dan nutrisi, misalnya saat penyembuhan luka, peradangan, atau pertumbuhan jaringan baru. Selain perannya dalam angiogenesis fisiologis, VEGF juga berkontribusi pada berbagai kondisi patologis. Peningkatan ekspresi VEGF sering ditemukan pada penyakit inflamasi kronis, kanker, serta proses fibrosis. Dalam konteks dermatologi, VEGF terbukti berperan penting dalam perkembangan lesi *acne vulgaris*, baik dalam fase inflamasi maupun dalam proses penyembuhan dan pembentukan jaringan parut.

Penelitian terkini menunjukkan adanya keterkaitan antara regulasi VEGF dengan agen terapeutik alami. Sebagai contoh, review yang dilakukan oleh Juan Jang *et al.* dalam artikel *Research Progress on Therapeutic Effect and Mechanism of Propolis on Wound Healing* menguraikan bahwa propolis dapat meningkatkan ekspresi VEGF secara signifikan pada fase proliferasi penyembuhan luka. Mekanisme ini berkontribusi pada percepatan angiogenesis, peningkatan pembentukan jaringan granulasi, dan percepatan epitelisasi luka. Selain itu, propolis juga mampu menekan mediator inflamasi berlebihan seperti MMP-9 dan IL-1, sehingga menciptakan lingkungan penyembuhan yang lebih kondusif. Data yang mendukung peran VEGF dalam perkembangan pembentukan jaringan parut menunjukkan bahwa VEGF dapat ditargetkan untuk meminimalkan jaringan parut dan fibrosis.<sup>33</sup>

### 2.3.2 Peran VEGF terhadap *Acne Vulgaris*

Pada *acne vulgaris*, peradangan yang dipicu oleh kolonisasi *C. acnes* mengaktifkan jalur TLR2 dan NF- $\kappa$ B sehingga meningkatkan produksi mediator inflamasi seperti IL-1 , TNF- $\alpha$ , dan IL-8. Kondisi inflamasi kronis ini akan merangsang pelepasan VEGF dari keratinosit, fibroblas, dan sel imun (makrofag dan neutrofil) di area lesi jerawat. VEGF berfungsi meningkatkan angiogenesis, yaitu pembentukan pembuluh darah baru pada area inflamasi. Peran ini krusial dalam penyembuhan jerawat karena angiogenesis memungkinkan suplai oksigen dan nutrisi yang adekuat untuk regenerasi jaringan kulit. Namun, ekspresi VEGF yang berlebihan juga dapat berdampak negatif, karena stimulasi angiogenesis berlebih berhubungan dengan pembentukan jaringan granulasi yang tidak terkontrol, fibrosis, dan pada akhirnya meningkatkan risiko terbentuknya scar acne, atrofi maupun hipertrofik. Dengan meningkatkan VEGF pada fase proliferasi namun tetap mengontrol inflamasi, propolis berpotensi mempercepat resolusi lesi jerawat sekaligus mencegah terjadinya jaringan parut permanen. Oleh karena itu, modulasi VEGF melalui penggunaan propolis dapat dipertimbangkan sebagai salah satu mekanisme penting dalam pencegahan dan terapi acne vulgaris. Oleh karena itu, VEGF dapat dipandang sebagai biomarker penting yang merefleksikan keseimbangan antara proses penyembuhan dan risiko terbentuknya jaringan parut pada acne vulgaris.

## 2.4 Metode Pemeriksaan IL-1 dan VEGF Menggunakan ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

Metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) adalah teknik laboratorium yang digunakan untuk mengukur konsentrasi molekul tertentu, seperti sitokin dan faktor pertumbuhan, dalam sampel biologis. ELISA banyak digunakan untuk memeriksa kadar molekul seperti IL-1 dan VEGF, yang merupakan dua biomarker penting yang berperan dalam proses inflamasi dan pembentukan pembuluh darah pada berbagai kondisi kulit, termasuk *Acne Vulgaris*. Dalam ELISA, proses deteksi dimulai dengan mengikat antigen, dalam hal ini IL-1 atau VEGF, pada permukaan sumur mikrotiter yang dilapisi dengan antibodi spesifik. Selanjutnya, sampel yang mengandung antigen akan berikatan dengan antibodi sekunder yang berlabel enzim. Ketika substrat ditambahkan, enzim akan mengkatalisis reaksi yang menghasilkan perubahan warna yang dapat diukur menggunakan spektrofotometer. Intensitas warna yang dihasilkan berkorelasi langsung dengan konsentrasi antigen dalam sampel.<sup>34,35</sup>

Prosedur ELISA terdiri dari beberapa langkah kunci. Pertama, sumur dalam pelat mikrotiter dilapisi dengan antibodi yang telah diketahui spesifik untuk IL-1 atau VEGF. Kemudian, sampel yang mengandung IL-1 atau VEGF ditambahkan ke dalam sumur tersebut dan dibiarkan untuk berikatan dengan antibodi. Setelah proses inkubasi, antibodi sekunder yang berlabel enzim ditambahkan. Enzim ini akan mengkatalisis reaksi dengan substrat untuk menghasilkan warna yang bisa diukur. Proses ini memungkinkan pengukuran kuantitatif konsentrasi IL-1 dan VEGF dalam sampel. Salah satu keuntungan utama ELISA adalah kemampuannya

untuk mengukur konsentrasi molekul dalam jumlah yang sangat rendah dengan sensitivitas yang tinggi.<sup>34,35</sup>

Keakuratan dan ketelitian hasil ELISA sangat bergantung pada pemilihan antibodi yang tepat serta kualitas kontrol eksperimen. Penelitian yang lebih baru menunjukkan bahwa ELISA dapat digunakan untuk mengukur kadar IL-1 dan VEGF dengan presisi tinggi dalam berbagai jenis sampel biologis, termasuk serum, plasma, atau cairan biologis lainnya. Studi terbaru juga telah membuktikan bahwa ELISA efektif dalam mendeteksi perubahan kadar IL-1 dan VEGF pada pasien dengan kondisi inflamasi kronis seperti jerawat, di mana kadar kedua biomarker ini cenderung meningkat seiring dengan progresi peradangan. Sebagai contoh, ELISA telah digunakan untuk memantau kadar IL-1 dalam terapi jerawat, menunjukkan korelasi yang signifikan antara kadar IL-1 dan tingkat keparahan jerawat.<sup>34,35</sup>

Metode ELISA untuk pengukuran kadar IL-1 dan VEGF dilakukan dengan terlebih dahulu melapisi sumur mikrotiter dengan antibodi spesifik yang dapat mengenali IL-1 atau VEGF. Setelah itu, sampel biologis yang mengandung IL-1 atau VEGF, seperti serum atau plasma, ditambahkan ke dalam sumur tersebut dan dibiarkan berikatan dengan antibodi. Proses inkubasi ini memungkinkan antigen IL-1 atau VEGF dalam sampel untuk terikat dengan antibodi yang telah terlapisi pada permukaan sumur. Selanjutnya, antibodi sekunder yang berlabel enzim ditambahkan, yang berfungsi mengikat antigen yang telah terikat dengan antibodi pertama. Setelah inkubasi dengan antibodi sekunder, substrat yang sesuai ditambahkan, dan enzim yang terikat pada antibodi sekunder akan mengkatalisis reaksi yang menghasilkan perubahan warna. Intensitas warna yang terbentuk

kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang tertentu. Konsentrasi IL-1 dan VEGF dalam sampel dapat ditentukan secara kuantitatif berdasarkan intensitas warna yang dihasilkan, yang berbanding lurus dengan jumlah antigen dalam sampel.<sup>34,35</sup>

Perkembangan teknik ELISA terus meningkatkan kemampuan deteksi dan efisiensi waktu, memungkinkan penggunaan metode ini dalam studi klinis dan penelitian lebih lanjut. Beberapa penelitian baru-baru ini menunjukkan bahwa modifikasi pada protokol ELISA dapat meningkatkan sensitivitas, mengurangi waktu inkubasi, dan meminimalkan variasi antara eksperimen, sehingga hasil yang lebih konsisten dapat diperoleh dalam pengukuran kadar IL-1 dan VEGF pada pasien dengan penyakit inflamasi kulit. Dengan kemampuan tersebut, ELISA tetap menjadi metode pilihan untuk memonitor biomarker inflamasi dan angiogenesis pada berbagai kondisi dermatologis.<sup>34,35</sup>

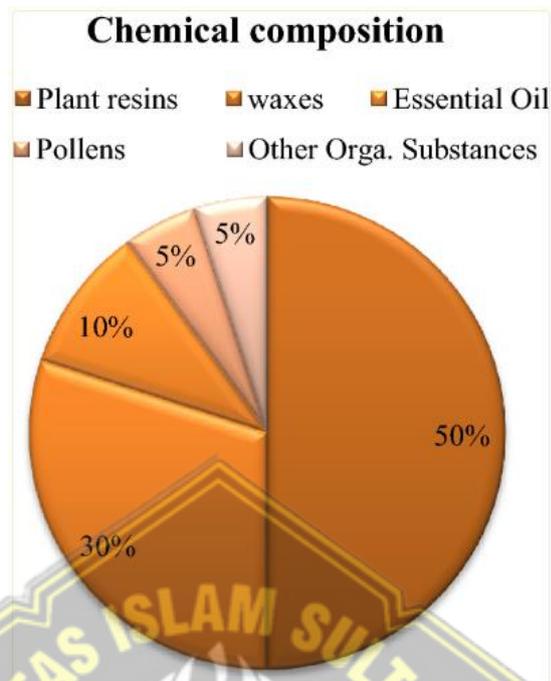
## **2.5 Faktor-Faktor Eksternal yang Memengaruhi IL-1 dan VEGF**

Inflamasi kulit yang terjadi pada kondisi seperti AV tidak hanya dipengaruhi oleh faktor internal seperti genetika dan sistem kekebalan tubuh, tetapi juga oleh berbagai faktor eksternal yang dapat memperburuk atau mempercepat proses inflamasi. IL-1 dan VEGF adalah dua molekul penting yang berperan dalam respon inflamasi dan pembentukan pembuluh darah pada kulit. IL-1 adalah sitokin proinflamasi yang berperan dalam peningkatan peradangan, sedangkan VEGF berfungsi untuk merangsang angiogenesis atau pembentukan pembuluh darah baru yang terkait dengan proses perbaikan jaringan. Faktor eksternal seperti hormon,

paparan sinar UV, polusi, merokok, stres, usia, berat badan dan jenis kelamin memiliki peran yang signifikan dalam mempengaruhi kadar IL-1 dan VEGF, yang dapat memperburuk kondisi kulit. Pemahaman tentang faktor-faktor ini sangat penting untuk mengembangkan strategi pengobatan yang lebih efektif dalam mengelola kondisi inflamasi kulit seperti jerawat.<sup>36-38</sup>

## **2.6 Propolis dan Komponen Aktifnya**

Telah diketahui secara luas bahwa tanaman obat menunjukkan efek farmakologis berkat konstituen kimianya. Propolis mentah tidak hanya mengandung resin tanaman, tetapi juga lilin, minyak esensial, serbuk sari, dan zat organik lainnya dalam persentase yang berbeda seperti pada gambar 2.3. Propolis terdiri dari profil kimia yang agak rumit seperti yang dilaporkan karena kandungannya yang kompleks. Banyak penelitian melaporkan bahwa propolis mengandung, khususnya, asam fenolik, flavonoid, keton, aldehida, kalkon, dihidrokalkon, terpenoid, asam amino, asam alifatik, ester dan asam aromatik, karbohidrat, vitamin, logam, dan juga lilin lebah.<sup>39</sup>



**Gambar 2.2** Komposisi Propolis

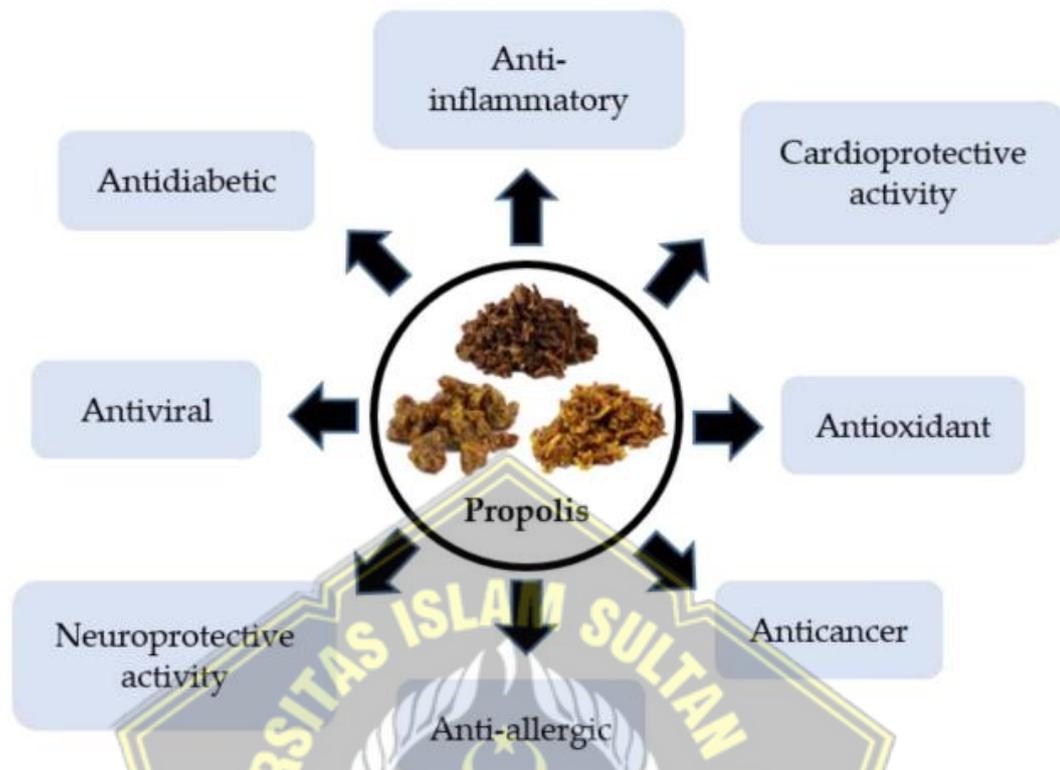
Warna dan titik leleh propolis bervariasi menurut daerah dan sumber tanaman. Propolis meleleh pada suhu 60 °C hingga 70 °C sementara beberapa jenisnya meleleh pada suhu 100 °C. Etanol merupakan pelarut yang paling cocok untuk mendapatkan ekstrak propolis secara komersial, namun ada juga yang menggunakan metanol, kloroform, eter dan aseton.<sup>39,40</sup>

### **2.6.1 Manfaat Propolis**

Propolis telah lama digunakan sebagai obat bakterisida, antivirus, dan antijamur dalam pengobatan tradisional untuk mengobati peradangan. Propolis digunakan untuk regenerasi kulit, penyembuhan luka, dan sebagai anestesi lokal. Propolis juga telah disarankan dalam pengobatan tradisional untuk pengobatan gangguan infeksi karena telah terbukti meningkatkan penyembuhan luka. Propolis juga sering digunakan sebagai zat aktif dalam beberapa suplemen makanan,

kosmetik, dan bahkan manisan obat. Berbeda seperti madu dan bee pollen, propolis tidak memiliki nilai gizi, tetapi memberikan efek biotik yang sangat kuat. Propolis masih digunakan untuk mengobati luka dan luka bakar, serta sakit tenggorokan, karies gigi, dan tukak lambung. Ekstrak etanol propolis telah dikenal memiliki sifat anti-inflamasi dan digunakan sebagai agen imunomodulator. Para peneliti menggunakan nanopartikel untuk menguji penggunaan propolis untuk berbagai tujuan. Penggunaan metode pengiriman berbasis nanopartikel berpotensi membuat senyawa hidrofobik seperti propolis dapat terdispersi dalam media berair, menghindari masalah yang terkait dengan kelarutan yang buruk.<sup>41,42</sup>

Seiring dengan perkembangan dan peningkatan teknologi obat-obatan, muncul minat baru dalam studi propolis dan berbagai komponennya. Selain khasiat obat dan terapinya untuk mengobati berbagai penyakit kronis, propolis telah digunakan secara efektif dalam pengobatan diabetes, luka bakar, luka, masalah ginekologi, penyakit laringologi, dermatologi, dan neurodegeneratif, penyakit gastrointestinal, penyakit terkait saluran pernapasan, dan gangguan kardiovaskular, serta COVID-19. Potensi penggunaan propolis dalam kesehatan dan penyakit manusia ditunjukkan secara skematis pada Gambar 2.3.<sup>43</sup>



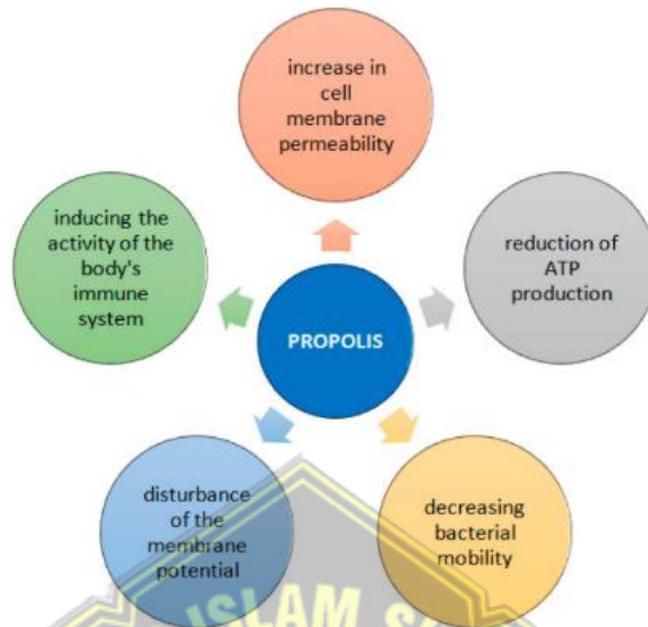
**Gambar 2.3** Potensi Propolis

Propolis juga mengandung berbagai mineral penting seperti kalsium, magnesium, kalium, natrium, seng, besi, dan mangan yang berperan dalam menjaga kesehatan kulit, mendukung regenerasi jaringan, serta memperkuat sistem imun. Kalsium dan magnesium membantu mempertahankan integritas membran sel kulit, sementara kalium dan natrium menjaga keseimbangan cairan sehingga mencegah kulit menjadi terlalu kering atau berminyak. Seng memiliki peran khusus dalam mengontrol produksi sebum dan menghambat pertumbuhan *Cutibacterium acnes*, bakteri utama penyebab jerawat, sedangkan besi dan mangan mendukung aktivitas enzim antioksidan yang melindungi sel dari kerusakan akibat radikal bebas. Melalui kombinasi mekanisme ini, mineral dalam propolis tidak hanya membantu mempercepat penyembuhan lesi dan mencegah jaringan parut, tetapi juga menekan

proses inflamasi dan pertumbuhan bakteri, sehingga bermanfaat dalam mengurangi keparahan dan kekambuhan *Acne Vulgaris*.<sup>44,45</sup>

### **2.6.2 Aktivitas Antibakteri Propolis**

Aktivitas antibakteri propolis harus dipertimbangkan pada dua level. Pertama, ia terhubung dengan tindakan langsung pada mikroorganisme, dan yang lainnya dengan stimulasi sistem imun yang mengakibatkan aktivasi pertahanan alami organisme. Analisis mekanisme propolis memungkinkan untuk menyimpulkan efeknya pada permeabilitas membran sel mikroorganisme, gangguan potensial membran dan produksi adenosin trifosfat (ATP) serta penurunan mobilitas bakteri seperti ditunjukkan pada Gambar 2.4. Secara umum, diamati bahwa aktivitas antimikroba propolis lebih tinggi dalam kaitannya dengan bakteri Gram-positif daripada bakteri Gram-negatif. Hal ini dijelaskan oleh struktur spesifik spesies dari membran luar bakteri Gram-negatif dan produksi enzim hidrolitik yang memecah bahan aktif propolis.<sup>46</sup>



**Gambar 2.4** Mekanisme aktivitas propolis terhadap bakteri

Asam sinamat dari propolis menghambat bakteri dengan merusak membran sel, menghambat ATPase, pembelahan sel dan pembentukan biofilm. Selain itu, mereka memiliki aktivitas anti-quorum sensing.<sup>46</sup>

Propolis juga mengandung banyak bahan lain, seperti terpenoid lupeol, flavonoid: quercetin, chrysin, kaempferol, fisetin atau asam dekenoat, yaitu asam 10-hidroksil-2-decenoat. Beberapa penelitian menganalisis aktivitas antibakteri dan anti-inflamasi dari quercetin, chrysin dan kaempferol.<sup>46,47</sup>

Dalam penelitian yang dilakukan di Korea oleh Park *et al.*, para ilmuwan melihat efektivitas lipase dalam menurunkan kadar asam lemak dalam ekstrak propolis. Lilin lebah dan resin merupakan komponen utama propolis dan keduanya bersifat hidrofobik. Penggunaan enzim pengurai lemak membantu meningkatkan ekstraksi dan isolasi senyawa propolis aktif yang dapat membuatnya digunakan

lebih luas. Reaksi yang melibatkan lipozim TL IM meningkatkan aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acne*.<sup>46</sup>

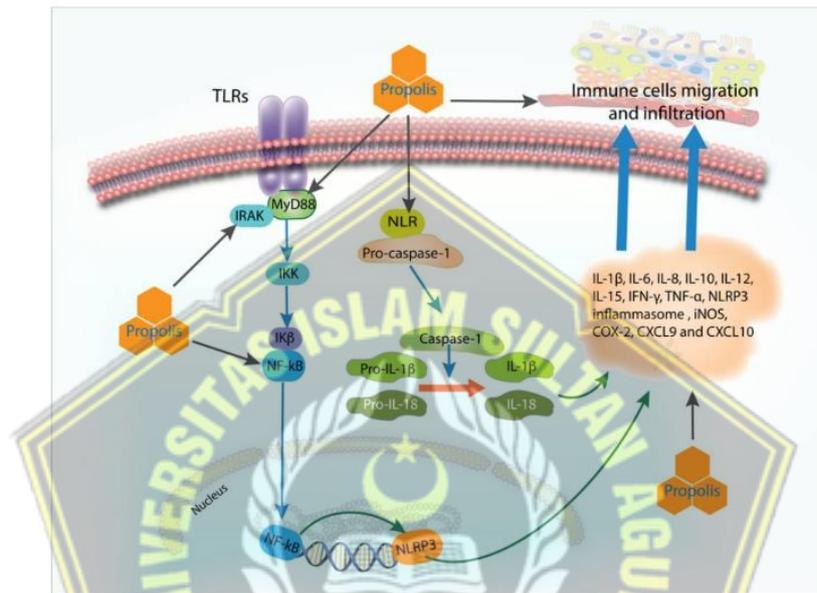
Evaluasi aktivitas antibakteri ekstrak propolis didasarkan pada penentuan kandungan fenolik total (TP) dan flavonoid (FP). Dalam penelitian Bridi *et al.* menemukan bahwa uji TP dan FP tidak selalu mencerminkan aktivitas antimikroba secara memadai secara *in vitro*. Hasil TP dalam sampel dengan kandungan tertinggi dan terendah berbanding lurus dengan kandungan flavonoid dan sifat antioksidan. Namun keduanya tidak ambigu dalam kasus aktivitas antibakteri. Disarankan agar uji lain, misalnya, ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) dan uji antimikroba, dipertimbangkan dalam menetapkan standar kualitas internasional untuk propolis.<sup>46</sup>

Terdapat penelitian terbatas mengenai aksi propolis pada bakteri anaerob. Namun, banyak penelitian mengindikasikan aktivitas tinggi produk lebah ini terhadap spesies *Clostridium*, *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Actinomyces* dan *Propionibacterium*. Dalam penelitian di Polandia, bakteri anaerob dari genus *Fusobacterium* adalah yang paling rentan terhadap konsentrasi rendah (0,01–0,06 mg/mL) ekstrak etanol dari propolis (EEP). Namun, bakteri dari genus *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* dan *Propionibacterium* sensitif terhadap EEP dalam konsentrasi tinggi (1–3 mg/mL).<sup>46</sup>

### **2.6.3 Propolis dalam Peradangan**

Propolis secara umum bertindak sebagai zat anti-inflamasi dengan menghambat dan menurunkan regulasi inflamasi TLR4, MyD88, IRAK4, TRIF,

NLRP, dan sitokin pro-inflamasi terkaitnya, seperti IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$ , dan TNF- $\alpha$ . Propolis juga mengurangi migrasi sel imun, seperti makrofag dan neutrofil, mungkin dengan menurunkan regulasi kemokin CXCL9 dan CXCL10 seperti ditunjukkan pada Gambar 2.5.<sup>48</sup>



**Gambar 2.5** Mekanisme kerja propolis dalam memodulasi peradangan<sup>48</sup>

Respons yang berlawanan diamati dalam beberapa penelitian yang terkait dengan penyembuhan luka. Propolis tampaknya mendorong respons peradangan yang intens dalam proses penyembuhan luka awal. Namun, peradangan kemudian berkurang secara nyata segera setelah luka awal. Hasilnya, luka yang diobati dengan propolis umumnya sembuh secara signifikan lebih cepat dibandingkan dengan luka yang tidak diobati. Sifat anti-inflamasi dan imunomodulasi propolis telah ditunjukkan tidak hanya dalam penelitian in vitro, ex vivo, dan in vivo, tetapi juga dalam berbagai uji klinis manusia dengan hasil yang konsisten seperti pengurangan penanda peradangan serum dan jaringan: IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , dan hs-CRP, dan pengurangan infiltrasi sel imun di lokasi peradangan. Selain itu, efek anti-

inflamasi ditunjukkan dalam penelitian yang menggunakan ekstrak propolis yang bersumber dari berbagai sumber geografis dan jenis lebah, memperkuat konsistensi sifat anti-inflamasi propolis.<sup>48</sup>

Sebagian besar penelitian yang menyelidiki efek propolis pada komponen sistem imun telah dilakukan dalam penelitian *in vitro* dan *ex vivo*. Propolis tampaknya memiliki efek modulasi inflamasi pada imunitas bawaan. Bueno-Silva menunjukkan bahwa pada makrofag peritoneum yang diaktifkan LPS yang diisolasi dari mencit C57BL6, propolis mengurangi ekspresi sitokin inflamasi seperti IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL12p40, IL12p70, IL1-3, *monosit chemoattractant protein-1* (MCP1), dan *granulosit-makrofag colony-stimulating factor* (GM-CSF).<sup>48</sup>

Beberapa penelitian *in vivo* menunjukkan efek propolis dalam memodulasi sistem imun menuju profil regulasi dan lingkungan anti-inflamasi. Pada anak kambing Mesir-Nubian yang baru lahir, suplementasi propolis secara signifikan meningkatkan kadar imunoglobulin IgG dan IgA serum dan mengurangi kadar sitokin pro-inflamasi serum (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6). Hsieh menunjukkan bahwa propolis melemahkan peningkatan infiltrasi neutrofil yang disebabkan oleh injeksi monosodium urat (MSU) intraperitoneal. Propolis juga menghambat ekspresi IL-1 $\beta$  yang diinduksi MSU, caspase-1 aktif, IL-6, dan MCP-1 dalam cairan lavage peritoneal.<sup>49,50</sup>

Propolis juga mempertahankan ekspresi TLR-2, TLR-4, HLA-DR, CD40, dan CD80 pada monosit yang diisolasi dari subjek manusia yang sehat. Ketika monosit ditantang dengan MAGE-1 atau LPS, propolis menghambat ekspresi TNF- $\alpha$  dan IL-6 pro-inflamasi dan meningkatkan IL-10 anti-inflamasi.<sup>51</sup> Penelitian lain

juga telah mengkonfirmasi kemanjuran ekstrak propolis dari berbagai lokasi geografis dalam mengurangi ekspresi sitokin pro-inflamasi TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6 pada makrofag, LPS yang diinduksi-THP-1, kristal monosodium urat (MSU)-sel THP-1 yang diaktifkan, dan kultur sel mononuklear darah tepi manusia (PMBC) yang diinduksi LPS.<sup>7,51-53</sup>

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa propolis menunjukkan beberapa aspek aktivitas pro-inflamasi dalam lingkungan immunosupresif, yang menunjukkan kemampuan propolis untuk bertindak sebagai immunomodulator dan/atau zat pemulih kekebalan. Selain itu, propolis juga mampu menginduksi proliferasi limfosit, ekspresi IL-4 dan IFN- $\gamma$ , dan meningkatkan respon antibodi dengan pola IgG1 dominan, sebanding dengan adjuvan Freund dan Alum pada kandidat vaksin HIV.<sup>54</sup>

#### **2.6.4 Propolis dalam Penyembuhan Luka**

Flavonoid pada propolis berperan dalam menstimulasi makrofag dan PMN. Makrofag melepaskan VEGF dan FGF-2 untuk menginduksi angiogenesis yang merupakan titik kritis antara inflamasi kronik dan fibrosis. Stimulasi angiogenesis menghasilkan migrasi, proliferasi, dan diferensiasi sel endotel. Proliferasi kapiler berperan sebagai jalur oksigenasi dan mikronutrien untuk pertumbuhan jaringan.<sup>55</sup>

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Erna dan Sari menemukan Gel ekstrak propolis meningkatkan ekspresi VEGF dan menurunkan ekspresi MMP-9 selama proses penyembuhan ulkus traumatik pada mukosa mulut mencit (*R. norvegicus*) yang menderita diabetes.<sup>55</sup>

### 2.6.5 Serum Ekstrak Propolis

Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa sediaan serum topikal memiliki efektivitas yang lebih tinggi dibandingkan krim dalam mengantarkan bahan aktif ke dalam jaringan kulit. Hal ini disebabkan oleh karakteristik fisik serum yang cenderung lebih ringan, mengandung bahan aktif dalam konsentrasi lebih tinggi, dan mampu menembus lapisan epidermis secara lebih efisien dibandingkan sediaan berbasis krim yang bersifat lebih oklusif. Penelitian oleh Baswan *et al.* menyebutkan bahwa formulasi serum berbasis nanoemulsi memperlihatkan peningkatan penetrasi bahan aktif secara signifikan melalui stratum korneum jika dibandingkan dengan sediaan krim konvensional. Hasil serupa dilaporkan oleh Zielińska *et al.*, yang menemukan bahwa partikel mikrokapsul dalam serum menghasilkan stabilitas bahan aktif yang lebih baik dan meningkatkan penetrasi ke lapisan dermis. Selain itu, Bhaskar *et al.* mengungkapkan bahwa serum berbasis hidrogel memberikan ketersediaan hayati lokal yang lebih tinggi dibandingkan krim, serta memperkuat efek farmakologis bahan antiinflamasi. Oleh karena itu, pemilihan bentuk sediaan serum propolis dalam penelitian ini dianggap tepat untuk mengoptimalkan efek antiinflamasi dan antiangiogenik terhadap IL-1 dan VEGF pada jerawat.<sup>56</sup>

# BAB III

## KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

### 3.1 Kerangka Teori

*Acne vulgaris* merupakan gangguan inflamasi kronis pada unit pilosebacea yang dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk produksi sebum berlebih, hiperkeratinisasi folikular, dan kolonisasi *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*). Bakteri ini memanfaatkan lipid dalam sebum sebagai sumber nutrisi dan memicu pelepasan mediator inflamasi, salah satunya *interleukin-1*.

*Cutibacterium acnes* adalah bakteri gram-positif anaerob yang memainkan peran utama dalam timbulnya inflamasi pada kulit. Aktivasi imun melalui TLR2 dan jalur inflamasi lain meningkatkan produksi IL-1, yang kemudian menstimulasi aktivasi jalur NF- $\kappa$ B. Aktivasi jalur ini menyebabkan peningkatan pelepasan sitokin proinflamasi lain, rekrutmen sel inflamasi, dan perburukan kerusakan jaringan kulit, yang pada akhirnya memperberat lesi jerawat.

Proses inflamasi pada jerawat kemudian juga memicu mekanisme penyembuhan alami kulit. Salah satu mediator penting pada fase proliferasi penyembuhan luka adalah VEGF. VEGF merupakan faktor pertumbuhan pro-angiogenik yang berfungsi merangsang pembentukan pembuluh darah baru. Peningkatan VEGF pada area kulit yang mengalami inflamasi jerawat sangat penting untuk menyediakan suplai oksigen, nutrisi, dan sel imun ke

jaringan yang rusak, sehingga mendukung fase proliferasi dalam penyembuhan luka. Dengan demikian, VEGF berperan sentral dalam mempercepat perbaikan jaringan kulit pasca inflamasi jerawat. Namun, ekspresi VEGF yang berlebihan dapat menyebabkan peningkatan permeabilitas vaskular dan berkontribusi pada inflamasi kronis maupun pembentukan jaringan parut.

Salah satu intervensi potensial untuk memodulasi proses ini adalah penggunaan serum ekstrak propolis. Propolis mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, asam fenolat, dan caffeic acid phenethyl ester (CAPE) yang memiliki aktivitas antiinflamasi, antioksidan, dan antibakteri. Mekanisme antiinflamasi propolis bekerja melalui penghambatan aktivasi jalur NF- $\kappa$ B, sehingga menurunkan ekspresi IL-1 dan mengurangi respons inflamasi. Efek antioksidan propolis juga membantu menekan produksi radikal bebas (ROS) yang dapat memperburuk kerusakan jaringan.

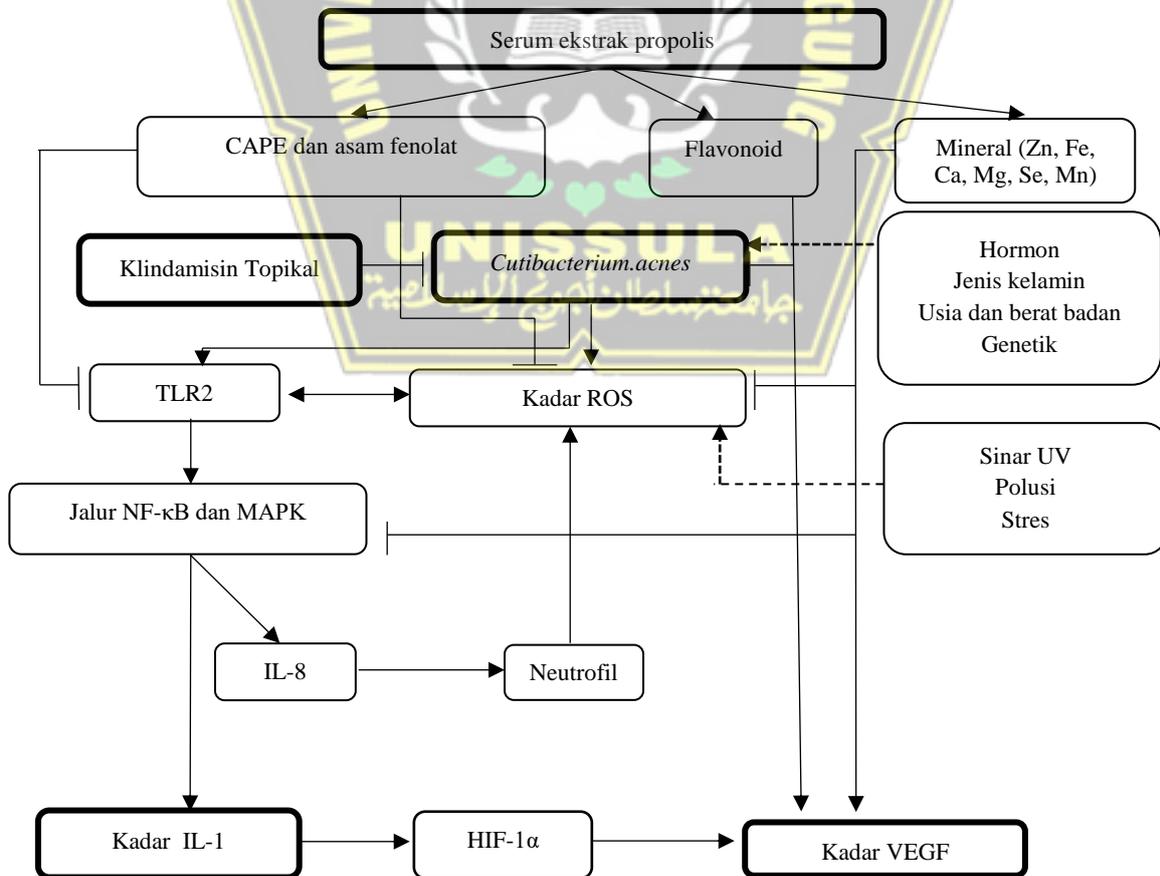
Dengan demikian, propolis tidak hanya berperan dalam menekan inflamasi melalui penurunan IL-1, tetapi juga dalam mendukung regenerasi jaringan melalui peningkatan VEGF yang terkontrol.

Sebagai pembanding, terapi standar jerawat seperti klindamisin topikal bekerja efektif sebagai antibiotik dengan menghambat sintesis protein bakteri *C. acnes*, sehingga menurunkan populasi bakteri dan mengurangi inflamasi. Namun, penggunaan jangka panjang memiliki risiko resistensi bakteri sehingga membatasi efektivitas terapi. Oleh karena itu, penggunaan propolis sebagai terapi alternatif jerawat menjadi menarik,

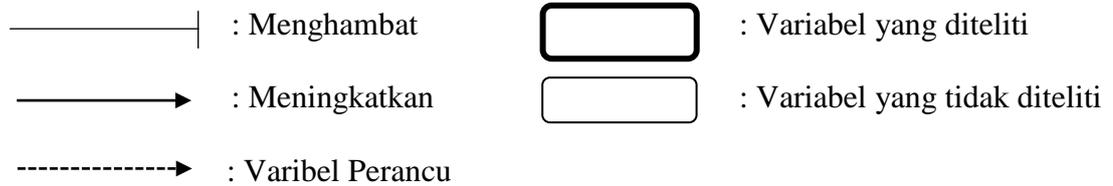
karena mampu memberikan efek antibakteri, antiinflamasi, dan pro-penyembuhan luka melalui regulasi angiogenesis sekaligus, dengan risiko efek samping dan resistensi yang lebih rendah.

Berdasarkan kerangka teori ini, penelitian ini bertujuan mengevaluasi efektivitas serum ekstrak propolis dalam menurunkan kadar IL-1 serta mendukung ekspresi VEGF yang diharapkan kombinasi penurunan mediator inflamasi dan peningkatan faktor penyembuhan dapat memberikan efek optimal dalam memperbaiki lesi jerawat, mengurangi inflamasi, dan mempercepat proses regenerasi kulit.

### Kerangka Teori

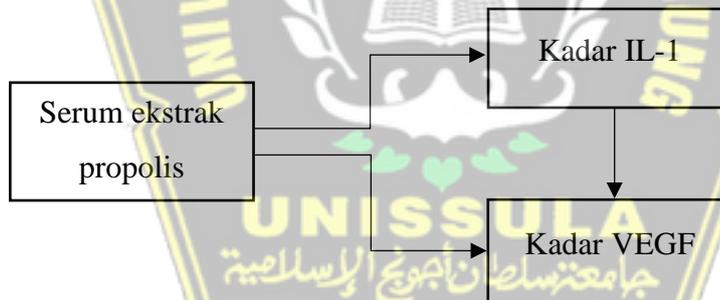


Keterangan :



**Gambar 3.1** Kerangka Teori

### 3.2 Kerangka Konsep



**Gambar 3.2** Kerangka Konsep

### 3.3 Hipotesis

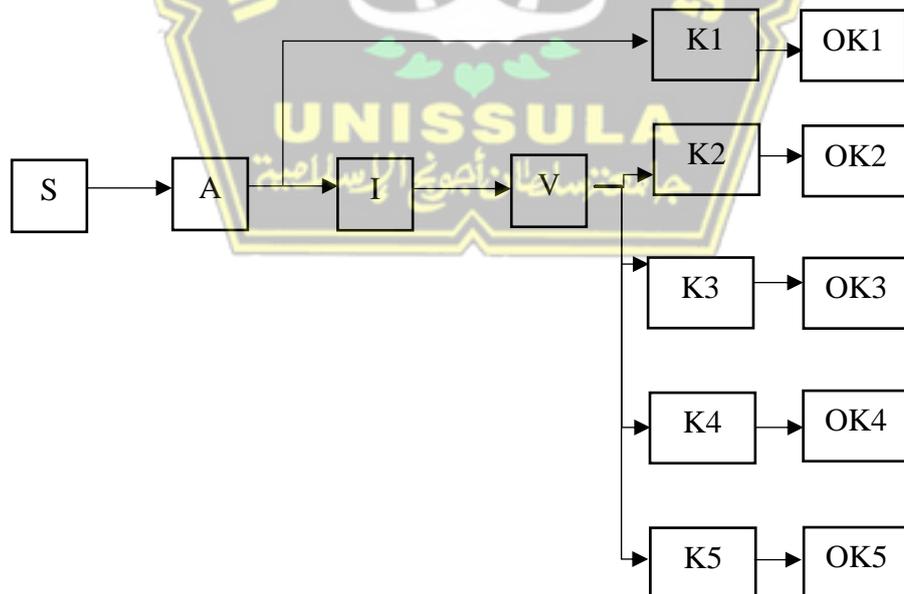
Terdapat pengaruh pemberian serum ekstrak propolis terhadap kadar IL-1 dan VEGF pada mencit jantan dengan jerawat yang dipapar *Cutibacterium acnes*, dibandingkan dengan kontrol.

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimen laboratorium *in vivo* yang bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas serum ekstrak propolis menggunakan model mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi *Acne Vulgaris*. Desain penelitian menggunakan *Post-Test Only Control Group Design* dengan durasi penelitian berlangsung selama kurang lebih 20 hari. Mencit dibagi ke dalam beberapa kelompok perlakuan, yaitu kelompok sehat, kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelompok perlakuan dengan berbagai konsentrasi serum ekstrak propolis (1% dan 2%).<sup>57</sup>



**Gambar 4.1** Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

S : Sample

A : Aklimatisasi

I : Induksi

V : Validasi jerawat

K1 : Mencit sehat tanpa perlakuan

K2 : Mencit dengan jerawat diberi placebo

K3 : Mencit dengan jerawat diberi kindamisin topikal

K4 : Mencit dengan jerawat diberi serum ekstrak propolis 1%

K5 : Mencit dengan jerawat diberi serum ekstrak propolis 2%

O1K1 : Observasi kadar IL-1 dan VEGF K1

O2K2 : Observasi kadar IL-1 dan VEGF K2

O3K3 : Observasi kadar IL-1 dan VEGF K3

O4K4 : Observasi kadar IL-1 dan VEGF K4

O5K5 : Observasi kadar IL-1 dan VEGF K5

## **4.2 Populasi dan Sampel Penelitian**

### **4.2.1 Populasi Penelitian**

Populasi dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan galur Balb/c berusia 6-8 minggu dengan berat badan berkisar antara 20-30 gram yang dipelihara dalam kondisi lingkungan yang terkendali (suhu 22-24°C dan kelembapan 50–60%). Mencit sehat dan bebas dari penyakit kulit. Mencit dipilih sebagai populasi karena memiliki karakteristik biologis yang sesuai untuk model in

vivo dalam penelitian dermatologis. Mencit memiliki kemiripan dalam hal struktur lapisan epidermis dan fungsi imun kulit dengan manusia, sehingga menjadi model yang relevan untuk mempelajari *Acne Vulgaris*. Mencit juga memberikan respons inflamasi yang mirip dengan patogenesis Acne pada manusia. Mencit sering digunakan dalam penelitian inflamasi dan mikrobiologi karena kulitnya responsif terhadap induksi Acne (*Acne Vulgaris*) menggunakan *Cutibacterium acnes*.

**a. Kriteria Inklusi**

1. Mencit (*Mus musculus*) jantan berusia 6-8 minggu.
2. Berat badan antara 20-30 gram.
3. Dalam kondisi sehat (Gerak aktif, makan dan minum cukup, tidak ada kelainan morfologi yang tampak)
4. Mampu beradaptasi dengan lingkungan penelitian selama periode adaptasi selama 7 hari.

**b. Kriteria Eksklusi**

1. Tidak menunjukkan lesi acne.

**c. Kriteria Drop Out**

1. Mencit yang mengalami kondisi kesehatan kritis atau kematian selama proses perlakuan.
2. Mencit yang menunjukkan reaksi hipersensitivitas parah terhadap aplikasi serum atau bahan lain yang digunakan dalam penelitian.

#### 4.2.2 Sampel Penelitian

Penentuan jumlah sampel dilakukan berdasarkan metode Federer's Formula untuk memastikan validitas dan reliabilitas hasil penelitian. Mencit yang terpilih kemudian dibagi ke dalam kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan kelompok perlakuan dengan berbagai konsentrasi serum berbasis ekstrak propolis (1% dan 2%).

$$(t - 1)(n - 1) \geq 15$$

Keterangan:

$t$  = jumlah kelompok perlakuan

$n$  = jumlah sampel per kelompok

Pada penelitian ini terdapat 5 kelompok perlakuan, sehingga diperoleh perhitungan sebagai berikut:

$$(5-1)(n-1) \geq 15 = 4(n-1) \geq 15 = n \geq 4.75$$

Dengan demikian Jumlah sampel ditentukan sebanyak 5 ekor mencit per kelompok. Sehingga untuk 5 kelompok diperlukan sampel sebanyak 25 ekor.

Pada penelitian ini jumlah sampel tiap kelompok ditentukan sebanyak 5 ekor mencit, dan jumlah kelompok sampel ada 5, sehingga penelitian ini membutuhkan 25 ekor mencit.

#### 4.2.3 Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Pengambilan sampel pada penelitian ini dengan menggunakan teknik *random sampling* dengan cara pengambilan sampel dalam populasi yang mempunyai kesempatan yang sama untuk dipilih menjadi sampel. Sistem yang digunakan yaitu pengambilan sampel secara acak dan sangat

sederhana (*simple random sampling*). Mencit yang dipilih memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditentukan. Selama periode adaptasi selama 7 hari, dipantau untuk memastikan tidak adanya tanda-tanda stres atau penyakit. Mencit yang tidak memenuhi kriteria atau menunjukkan abnormalitas kesehatan selama adaptasi dikeluarkan dari penelitian (kriteria eksklusi). Sampel yang memenuhi kriteria kemudian secara acak dimasukkan ke dalam kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok sehat, dan kelompok perlakuan dengan konsentrasi serum berbasis ekstrak propolis (1% dan 2%). Teknik ini dilakukan untuk memastikan homogenitas sampel sekaligus meningkatkan validitas internal penelitian.

### **4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional**

#### **4.3.1 Variabel Bebas**

- 1) Serum Ekstrak Propolis dengan konsentrasi 1% dan 2%

#### **4.3.2 Variabel Terikat (Dependen)**

- 1) Kadar *Interleukin-1* (IL-1).
- 2) Kadar *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) (ng/L).

#### **4.3.3 Definisi Operasional**

##### **4.3.3.1 Serum Ekstrak Propolis**

Propolis sediaan serum topikal berbasis ekstrak propolis dengan konsentrasi (1% dan 2%) yang diaplikasikan pada kulit punggung mencit.

Skala data : Nominal

Cara Pengukuran: serum ekstrak propolis diaplikasikan masing-masing 0,1ml/cm<sup>2</sup> pada lesi jerawat 1 kali pada pagi hari (pukul 10.00 wib) selama 7 hari.

#### **4.3.3.2 Kadar *Interleukin-1 (IL-1)***

Kadar IL-1 merupakan konsentrasi sitokin proinflamasi yang diukur dalam jaringan mencit jantan menggunakan metode ELISA. Data dinyatakan dalam satuan (ng/mL).

Skala data : Rasio

#### **4.3.3.3 Kadar *Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)***

Kadar VEGF adalah konsentrasi faktor pertumbuhan yang berperan dalam proses angiogenesis dan inflamasi, diukur dari jaringan mencit jantan. Hasil pengukuran dinyatakan dalam (ng/L) dan dianalisis pada skala data : Rasio

Cara Pengukuran: Menggunakan metode ELISA dengan membaca hasil absorbansi pada panjang gelombang tertentu. Data dibandingkan dengan kurva standar.

#### **4.3.3.4 *Acne Vulgaris***

Definisi: Kondisi inflamasi kulit yang diinduksi secara eksperimental melalui injeksi intradermal *C.acnes* pada kulit punggung mencit.

Indikator: Tanda-tanda inflamasi seperti eritema, edema, dan pembentukan lesi pada kulit punggung mencit.

## 4.4 Bahan atau Materi Penelitian

### 4.4.1. Bahan

1. Mencit Jantan

Sebanyak 25 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan galur Balb/c dengan usia 6-8 minggu dan berat badan 20-30 gram.

2. *Cutibacterium acnes* (C. acnes)

Bakteri *C. acnes* strain ATCC dikultur hingga mencapai konsentrasi  $10^8$  CFU/mL yang diperoleh dari Thermoscientific, kemudian disuspensikan dalam larutan PBS steril. Injeksi dilakukan secara intradermal pada punggung mencit dengan volume 50  $\mu$ L untuk menginduksi jerawat.

3. Serum Ekstrak Propolis

Serum propolis disiapkan dalam konsentrasi 1% dan 2%

Ekstrak propolis dalam penelitian ini diperoleh dari PT. INBI NUSANTARA SEJAHTERA dan diformulasi serum oleh PT DERMA ELOK FARMA.

4. Klindamisin Gel 1%

5. Basis Serum (*Placebo*)

6. Kit ELISA IL-1 dan VEGF

Kit digunakan untuk mengukur kadar IL-1 dan VEGF dalam sampel jaringan mencit.

7. Larutan Anestesi : ketamin dan xylazine

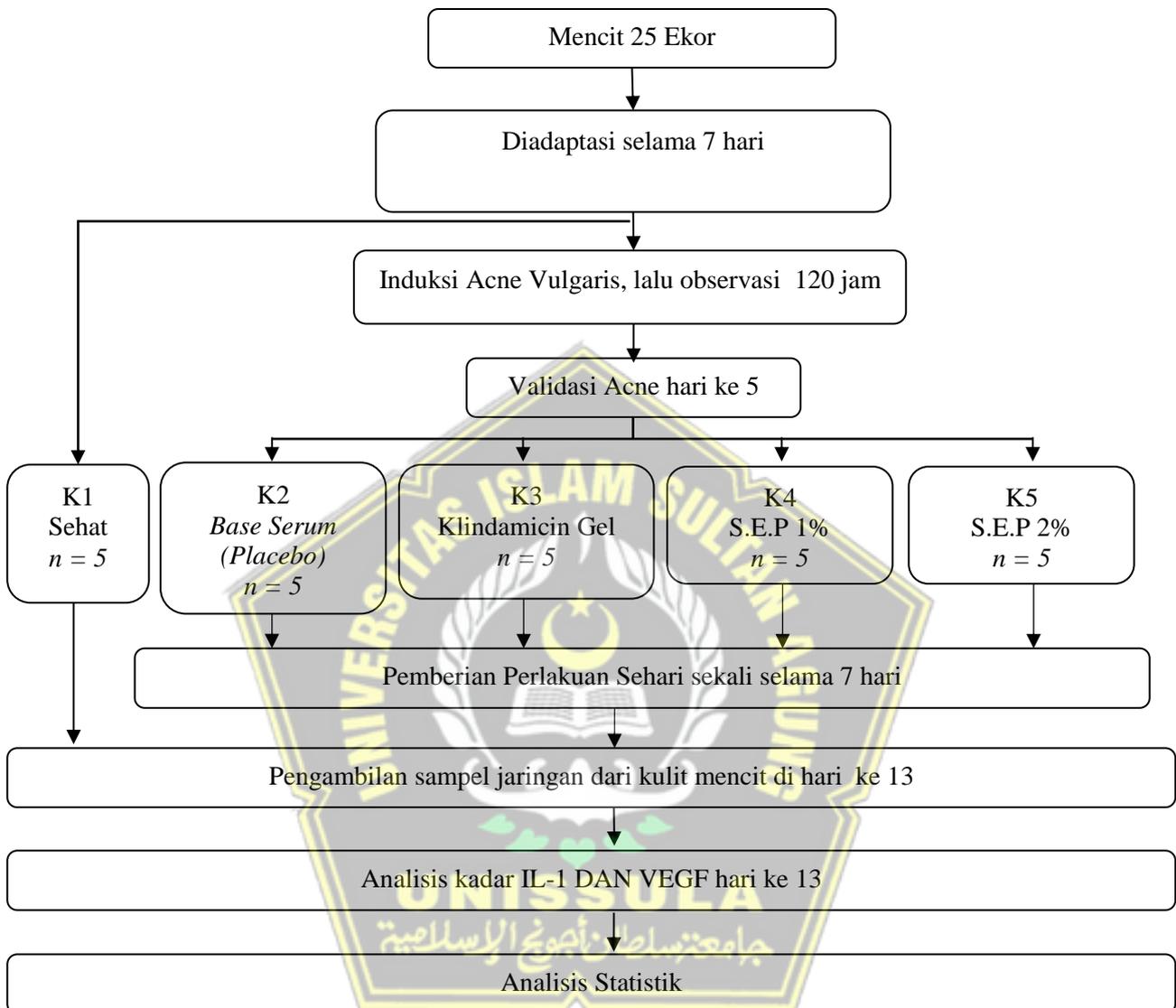
8. Phosphate Buffered Saline (PBS) steril  
Digunakan sebagai media pengenceran bakteri dan juga sebagai kontrol negatif untuk injeksi.
9. Media Kultur: Anaerobic Blood Agar atau Reinforced Clostridial Medium (RCM).
10. Buffer lisis (misalnya RIPA buffer) : untuk melisiskan jaringan saat proses homogenisasi

#### 4.4.2 Peralatan

1. Timbangan digital : untuk menimbang berat badan mencit secara presisi sebelum dan selama masa perlakuan untuk memantau kondisi kesehatan subjek.
2. Mikropipet (10–100  $\mu\text{L}$  dan 100–1000  $\mu\text{L}$ ) : untuk mengambil larutan bakteri, propolis, dan reagen ELISA dalam volume kecil secara akurat.
3. Tabung Eppendorf 1,5 mL dan 2 mL : sebagai wadah homogenat jaringan setelah proses homogenisasi dan untuk penyimpanan sebelum analisis ELISA.
4. Sentrifuge mikro (dengan pendingin lebih baik) : untuk memisahkan supernatan dari debris jaringan setelah homogenisasi pada suhu rendah agar protein tidak rusak.
5. ELISA reader dan washer : untuk membaca dan mencuci pelat mikrotiter pada saat analisis kadar IL-1 dan VEGF.
6. Gunting bedah kecil atau pisau bedah (scalpel) : Untuk mengambil jaringan kulit punggung secara aseptik

7. Pinset anatomi : Untuk memegang dan memisahkan jaringan saat diambil.
8. Homogenizer jaringan (manual atau elektrik) : Untuk menghancurkan jaringan kulit menjadi homogenat agar bisa diuji dengan ELISA.
9. Mikrosiringe (0,1 mL) : untuk melakukan injeksi intradermal suspensi *C. acnes* dengan volume akurat 50  $\mu$ L pada area kulit punggung mencit.
10. Pisau cukur elektrik/manual : mencukur bulu pada punggung mencit sebelum injeksi *C. acnes* atau pengolesan propolis, agar area perlakuan bersih dan steril.
11. Kandang mencit individu : untuk memelihara mencit selama masa adaptasi dan perlakuan agar tidak saling menjilat serum atau melukai satu sama lain.
12. Inkubator bakteri (37°C) : untuk mengkultur *C. acnes* dalam kondisi suhu optimal selama proses pertumbuhan bakteri.
13. Laminar airflow dan biosafety cabinet : gunakan saat penanganan bakteri patogen untuk menjaga kondisi aseptik dan keamanan pengguna.
14. Kamera dokumentasi : digunakan untuk mengambil gambar lesi kulit mencit secara berkala sebagai dokumentasi visual perkembangan jerawat.
15. Stopwatch atau timer digital : untuk mencatat durasi reaksi selama prosedur laboratorium (misalnya inkubasi ELISA atau waktu kerja reagen).
16. Spuit 1 mL dan jarum suntik : untuk mengambil dan memberikan larutan anestesi secara intraperitoneal kepada mencit.
17. Vortex mixer : untuk mencampur homogenat jaringan agar merata.

#### 4.5 Cara Penelitian dan Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur Penelitian

##### 4.5.1 Ethical Clearance

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Hewan Coba di institusi terkait, dengan mempertimbangkan kesejahteraan hewan dan penerapan prinsip 3R (Replacement, Reduction, Refinement).

#### 4.5.2 Perolehan Serum Ekstrak Propolis

Ekstrak propolis dalam penelitian ini diperoleh dari PT INBI NUSANTARA SEJAHTERA, sebuah perusahaan yang telah memenuhi standar industri kosmetik dan menyediakan dokumen pendukung seperti *Material Safety Data Sheet* (MSDS) dan *Certificate of Analysis* (COA), sebagai jaminan mutu dan kualitas bahan. Selanjutnya, sediaan serum diformulasi oleh PT Derma Elok Farma yang juga dilengkapi dengan COA sehingga mutu dan kualitas produk akhir tetap terjamin sesuai standar.

#### 4.5.3 Persiapan Hewan Uji

- a) Mencit diadaptasikan selama 7 hari di laboratorium dengan akses makanan dan minuman ad libitum.
- b) Mencit diperiksa kesehatannya dan dipilih sesuai kriteria inklusi (berat badan 20-30 gram, sehat fisik).

#### 4.5.4 Induksi *Acne Vulgaris*

- a) Dilakukan pencukuran terlebih dahulu pada daerah punggung mencit.
- b) Mencit dianestesi menggunakan campuran ketamin (100mg/kgBB) dan xylazine (10mg/kgBB) untuk menghindari stres.
- c) *Cutibacterium acnes* ( $10^8$  CFU/mL) disiapkan dalam larutan steril.
- d) Larutan *C. acnes* diinjeksikan intradermal pada kulit punggung mencit (volume 50  $\mu$ L) menggunakan jarum steril.

#### 4.5.5 Perlakuan dengan Serum Propolis

- a) Mencit dibagi ke dalam lima kelompok
- b) Serum diaplikasikan secara topikal satu kali sehari pada pagi hari pukul 10.00 pada area lesi jerawat sebanyak 0,1ml/cm<sup>2</sup> yang terinduksi selama 7 hari.

#### 4.5.6 Pengambilan Sampel

1. Anestesi dan eutanasia mencit sesuai protokol etis, jaringan kulit diambil dari area luka menggunakan gunting dan pinset steril, Pastikan mencit dalam kondisi anestesi (tidak merespon rangsangan),
2. Ambil jaringan kulit punggung pada area lesi jerawat menggunakan gunting bedah kecil dan pinset anatomi steril.
3. Cuci jaringan kulit dengan PBS dingin untuk menghilangkan sisa darah dan kontaminan lain yang menempel di permukaan jaringan.
4. Jika jaringan tidak langsung diproses, lakukan penyimpanan sementara dengan snap freezing menggunakan nitrogen cair, kemudian simpan di freezer -80°C.
5. Siapkan buffer lisis dingin (RIPA buffer) dan tambahkan protease inhibitor sesuai dosis rekomendasi produsen.
6. Potong jaringan menjadi bagian kecil-kecil ( $\pm 1-2$  mm) menggunakan gunting steril agar homogenisasi lebih mudah dan efisien.
7. Masukkan potongan jaringan ke dalam tabung mikrocentrifuge (1,5 mL atau 2 mL), kemudian tambahkan 500–1000  $\mu$ L buffer lisis dingin sesuai berat jaringan (misalnya 100 mg jaringan dengan 1 mL buffer lisis).

8. Homogenisasi jaringan menggunakan:
  - a. Mortar dan pestle yang didinginkan dengan nitrogen cair, atau
  - b. Homogenizer elektrik dengan kecepatan sedang-tinggi hingga jaringan menjadi homogen (halus sempurna).
9. Inkubasi homogenat pada suhu 4°C selama 30–60 menit. Lakukan vortex ringan setiap 10 menit untuk memastikan homogenisasi optimal.
10. Sentrifugasi homogenat pada kecepatan 12.000–14.000 rpm selama 15–20 menit pada suhu 4°C.
11. Setelah sentrifugasi, akan terbentuk 3 lapisan:
  - a. Lapisan atas (supernatan): mengandung protein larut seperti IL-1, VEGF, dan biomarker lainnya.
  - b. Lapisan tengah: sisa debris jaringan.
  - c. Lapisan bawah (pelet): material tidak larut.
12. Ambil supernatan secara hati-hati menggunakan pipet steril, pastikan tidak mengaduk atau mengambil bagian debris atau pelet.
13. Pindahkan supernatan ke tabung mikrosentrifuge baru, kemudian simpan di freezer –80°C sampai waktu analisis ELISA.

#### **4.5.7 Analisis Sampel**

Sampel jaringan kulit yang diperoleh dianalisis kadar IL-1 dan VEGF menggunakan metode ELISA, mengikuti prosedur yang dilampirkan dalam produk menggunakan microplate reader dengan Panjang gelombang 450 nm. Tahapan pemeriksaan sebagai berikut:

##### **A. Pembuatan standard**

- Sepuluh sumuran pada microplate disiapkan,
  - 100  $\mu$ L cairan standar dan 50  $\mu$ L diluent standar dicampur ke sumuran 1 dan 2 (campuran 1),
  - 100  $\mu$ L campuran 1 dan 50  $\mu$ L diluent standar dicampur ke sumuran 3 dan 4 (campuran 2),
  - 100  $\mu$ L campuran 2 dan 50  $\mu$ L diluent standar dicampur ke sumuran 5 dan 6 (campuran 3),
  - 100  $\mu$ L campuran 3 dan 50  $\mu$ L diluent standar dicampur ke sumuran 7 dan 8 (campuran 4).
- B. Antibodi ditambahkan dan dinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C, larutan pencuci dan aquadest dicampurkan sebanyak tiga puluh kali, dan cuci sumuran sebanyak lima kali dengan larutan pencuci yang telah disiapkan.
- C. Buffer penghalang ditambahkan agar antigen menempel pada plat selama 60 menit pada suhu 37°C atau selama semalam pada suhu 4°C
- D. Sampel dimasukkan sebanyak 100  $\mu$ L ke tiap sumuran, Inkubasi selama 120 menit pada suhu ruangan.
- E. Antibodi pada tiap sumuran ditambahkan sebanyak 100  $\mu$ L biotinylated antibody pada tiap sumuran.
- F. Plate diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C atau selama semalam pada suhu 4°C. Pencucian pada plate dilakukan sebanyak 5 kali dan ditambahkan 100  $\mu$ L ABC Solution pada tiap sumuran lalu inkubasi selama 30 menit dengan suhu 37°C.

- G. HRP-Conjugate dan TMB ditambahkan masing-masing sebanyak 100  $\mu$ L pada tiap sumuran dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C.
- H. Larutan stop solution ditambahkan sebanyak 100  $\mu$ L pada tiap sumuran sampai terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning.
- I. Pembacaan nilai OD (Optical Density) pada Panjang gelombang 450nm pada alat ELISA reader dan didapatkan hasil kadar IL-1 dan VEGF.

#### 4.6 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

- 1) Pengamatan Klinis: melakukan pengamatan langsung terhadap kondisi kulit mencit yang dipapar dengan *Cutibacterium acnes* dan yang diberikan perlakuan serum ekstrak propolis. Pengamatan ini dapat mencakup penilaian tingkat keparahan jerawat, jumlah lesi, dan perubahan morfologi kulit.
- 2) Pengukuran Kadar IL-1 dan VEGF : Pengambilan sampel jaringan dari mencit untuk mengukur kadar IL-1 dan VEGF dapat dilakukan. Teknik yang digunakan untuk analisis ini adalah ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), yang memungkinkan peneliti untuk mengukur konsentrasi protein-protein tersebut dalam jaringan mencit.
- 3) Statistik Deskriptif dan Inferensial: Data yang diperoleh dari pengukuran kadar IL-1 dan VEGF, serta hasil pengamatan klinis, dapat dianalisis menggunakan statistik deskriptif untuk memberikan gambaran umum tentang data. Selain itu, analisis statistik inferensial (seperti uji t atau ANOVA) dapat digunakan untuk menentukan

signifikansi perbedaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

- 4) Dokumentasi dan Pencatatan: Selama penelitian, semua data dan pengamatan harus dicatat dengan teliti untuk memastikan akurasi dan keandalan hasil penelitian.

Metode pengumpulan data ini bertujuan untuk memberikan gambaran yang komprehensif tentang efek serum ekstrak propolis terhadap kadar IL-1 dan VEGF serta untuk memahami mekanisme yang mendasari pengaruh tersebut pada jerawat.

#### **4.7 Analisis Data**

Analisis data bertujuan untuk menentukan efektivitas serum ekstrak propolis terhadap kadar IL-1 dan VEGF pada model *Acne Vulgaris* mencit. Berikut adalah langkah-langkah analisis data yang dilakukan:

##### **4.7.1 Pengolahan Data Awal**

- a) Data yang diperoleh berupa:
  - 1) Kadar IL-1 dan VEGF (ng/L): Diperoleh dari hasil pembacaan ELISA menggunakan *microplate reader*.
- b) Setiap data dikumpulkan dari masing-masing kelompok perlakuan (kontrol sehat, kontrol negatif, kontrol positif, dan kelompok propolis dosis 1% dan 2%).

##### **4.7.2 Pengujian Statistik**

Analisis data kadar IL-1 dan VEGF pada penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap untuk mengidentifikasi perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. Tahap awal berupa analisis deskriptif guna memperoleh nilai rerata,

simpangan baku kadar IL-1 dan VEGF pada setiap kelompok. Uji normalitas kemudian dilakukan menggunakan metode *Shapiro Wilk*, mengingat jumlah sampel sebanyak 25 ekor, dengan tujuan mengevaluasi kesesuaian distribusi data terhadap distribusi normal. Selanjutnya, uji homogenitas varians menggunakan *Levene's Test* dilakukan untuk menilai kesamaan varians antar kelompok.

Hasil uji pada IL-1 menunjukkan bahwa data memiliki sebaran normal dan varians yang tidak homogen ( $p > 0,05$ ), dan pada VEGF menunjukkan data sebaran tidak normal dan varians yang tidak homogen ( $p > 0,05$ ), sehingga analisis dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis* untuk menentukan adanya perbedaan antar kelompok. Uji ini menghasilkan nilai  $p < 0,05$ , yang mengindikasikan adanya perbedaan bermakna, sehingga dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengidentifikasi pasangan kelompok yang menunjukkan perbedaan signifikan. Seluruh analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS versi 25 untuk Windows dengan tingkat kemaknaan ( $\alpha$ ) sebesar 0,05.

#### **4.8 Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium IBL Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang dan Laboratorium Klinik CITO pada pemeriksaan kadar menggunakan ELISA

## **BAB V**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **5.1 Hasil Penelitian**

Penelitian ini bertujuan menilai pengaruh serum ekstrak propolis terhadap kadar IL-1 dan VEGF pada mencit jantan *Mus musculus* model acne-like yang dipapar bakteri *C. acnes*. Penelitian dilakukan selama 13 hari dengan menggunakan 25 ekor mencit yang dibagi menjadi lima kelompok perlakuan. Induksi *acne-like* dimulai pada hari pertama (H-0) melalui injeksi intradermal suspensi *C. acnes* pada kulit punggung mencit lalu di observasi hingga terbentuk lesi inflamasi menyerupai jerawat.

Pada hari ke-6 dilakukan validasi model *acne-like* untuk memastikan bahwa lesi yang terbentuk memenuhi kriteria inflamasi yang diinginkan. Setelah validasi, perlakuan dimulai. Kelompok perlakuan menerima aplikasi topikal serum ekstrak propolis konsentrasi 1% dan 2% pada area lesi selama tujuh hari berturut-turut. Kelompok pembanding mendapatkan terapi topikal klindamisin 1%, sedangkan kelompok kontrol hanya menerima placebo. Satu kelompok tambahan terdiri dari mencit sehat yang tidak menjalani induksi maupun perlakuan. Pengambilan sampel jaringan dilakukan pada hari ke-13, dimana setelah 13 hari perlakuan sejak induksi acne, tidak ada mencit yang mati atau mengalami masalah kulit lain. Pengambilan sampel jaringan diambil dari area lesi masing-masing mencit untuk pemeriksaan kadar IL-1 dan VEGF menggunakan metode ELISA.

### 5.1.1 Validasi Model *Acne-Like* pada Hewan Uji

Validasi model *acne-like* memperlihatkan perbedaan yang jelas antara kulit mencit sehat dan mencit yang diinduksi *C. acnes*. Mencit sehat memiliki permukaan kulit halus tanpa lesi atau tonjolan. Sebaliknya, mencit yang diinduksi *C. acnes* menunjukkan tonjolan kecil pada kulit punggung akibat proses inflamasi yang disebabkan infeksi bakteri, menyerupai pustula atau papula pada jerawat. Perbedaan kondisi kulit mencit pada tiap kelompok dapat diamati dengan jelas pada Gambar 5.1. Pada Gambar 5.1a, kulit mencit sehat terlihat halus tanpa adanya benjolan maupun lesi, sehingga dijadikan acuan sebagai kondisi fisiologis normal.

Pada kelompok kontrol negatif (Gambar 5.1b), baik hari pertama maupun hari ke-7, tampak benjolan kecil menyerupai papul di kulit punggung. Lesi jerawat tetap terlihat hingga akhir perlakuan, menunjukkan bahwa paparan *C. acnes* berhasil mempertahankan keadaan inflamasi tanpa adanya faktor yang menekan proses tersebut. Sementara itu, kelompok kontrol positif dengan klindamisin (Gambar 5.1c) memperlihatkan benjolan menonjol pada hari pertama. Setelah tujuh hari, benjolan masih ada tetapi jumlah dan ukurannya berkurang dibandingkan hari awal, menandakan adanya perbaikan meski kulit belum sepenuhnya kembali normal.

Pada kelompok perlakuan propolis 1% (Gambar 5.1d), kulit pada hari pertama masih memperlihatkan benjolan akibat induksi *C. acnes*. Setelah tujuh hari, benjolan tetap tampak, tetapi ukurannya lebih kecil dan jumlahnya berkurang, menunjukkan adanya efek antiinflamasi meskipun belum maksimal. Adapun pada perlakuan propolis 2% (Gambar 5.1e), lesi jerawat juga masih terlihat pada hari

pertama. Namun pada hari ke-7, jumlah dan ukuran benjolan lebih berkurang dibandingkan dengan kelompok klindamisin maupun propolis 1%. Hal ini menandakan bahwa meskipun inflamasi belum sepenuhnya hilang, penggunaan propolis 2% memberikan hasil paling signifikan dalam menekan peradangan dan mendekati kondisi kulit ke keadaan normal.



(a)



Hari Pertama Perlakuan



Hari Ke-7 Perlakuan

(b)



Hari Pertama Perlakuan



Hari Ke-7 Perlakuan

(c)



**Hari Pertama Perlakuan**



**Hari Ke-7 Perlakuan**

(d)



**Hari Pertama Perlakuan**



**Hari Ke-7 Perlakuan**

(e)

**Gambar 5.1 Validasi Model Mencit *acne-like* pada kulit mencit**

Keterangan:

- (a): Kulit Mencit Sehat
- (b): Kulit Mencit *Acne-Like* (Kontrol Negatif)
- (c): Kulit Mencit Kontrol Positif
- (d): Kulit Mencit Kelompok Serum Ekstrak Propolis 1%
- (e): Kulit Mencit Kelompok Serum Ekstrak Propolis 2%

### 5.1.2 Hasil Analisis Kadar IL-1 pada Jaringan Kulit Mencit

Berdasarkan hasil penelitian pada kadar IL-1, rerata kadar IL-1 (tabel 5.1) pada masing-masing kelompok menunjukkan variasi yang cukup jelas, di mana kadar tertinggi diperoleh pada kelompok K1 ( $23,32 \pm 1,02$ ), diikuti oleh K2 ( $23,13 \pm 2,27$ ), K4 ( $22,00 \pm 0,94$ ), K3 ( $21,56 \pm 1,26$ ), sedangkan kadar terendah ditemukan pada kelompok K5 ( $18,38 \pm 2,59$ ). Uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan

bahwa semua kelompok memiliki nilai  $p > 0,05$ , sehingga data dapat dinyatakan berdistribusi normal. Namun, uji homogenitas menggunakan *Levene's Test* menghasilkan nilai  $p = 0,037$  ( $p < 0,05$ ), yang menandakan adanya ketidakhomogenan varians antar kelompok. Oleh karena asumsi homogenitas tidak terpenuhi, analisis dilanjutkan dengan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*. Hasil analisis menunjukkan nilai  $p = 0,029$  ( $p < 0,05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan bermakna kadar IL-1 antar kelompok perlakuan. Temuan ini mengindikasikan bahwa perlakuan yang diberikan memberikan pengaruh terhadap kadar IL-1 pada mencit, dengan kelompok K5 menunjukkan penurunan paling nyata dibandingkan kelompok lainnya.

**Tabel 5.1** Hasil Rerata Kadar IL-1 pada Jaringan Kulit Mencit

Variabel	Kelompok					p value
	K1	K2	K3	K4	K5	
	Mean±SD n=5	Mean±SD n=5	Mean ±SD n=5	Mean ± SD n=5	Mean ± SD n=5	
<b>Kadar IL-1 (ng/mL)</b>	23.32 ± 1.02	23.13 ± 2.27	21.56 ± 1.26	22.00 ± 0.94	18.38 ± 2.59	
<i>Saphiro Wilk</i>	0.189	0.100	0.100	0.089	0.074	
<i>Levene's Test</i>						0.037
<i>Kruskal Wallis</i>						0.029*

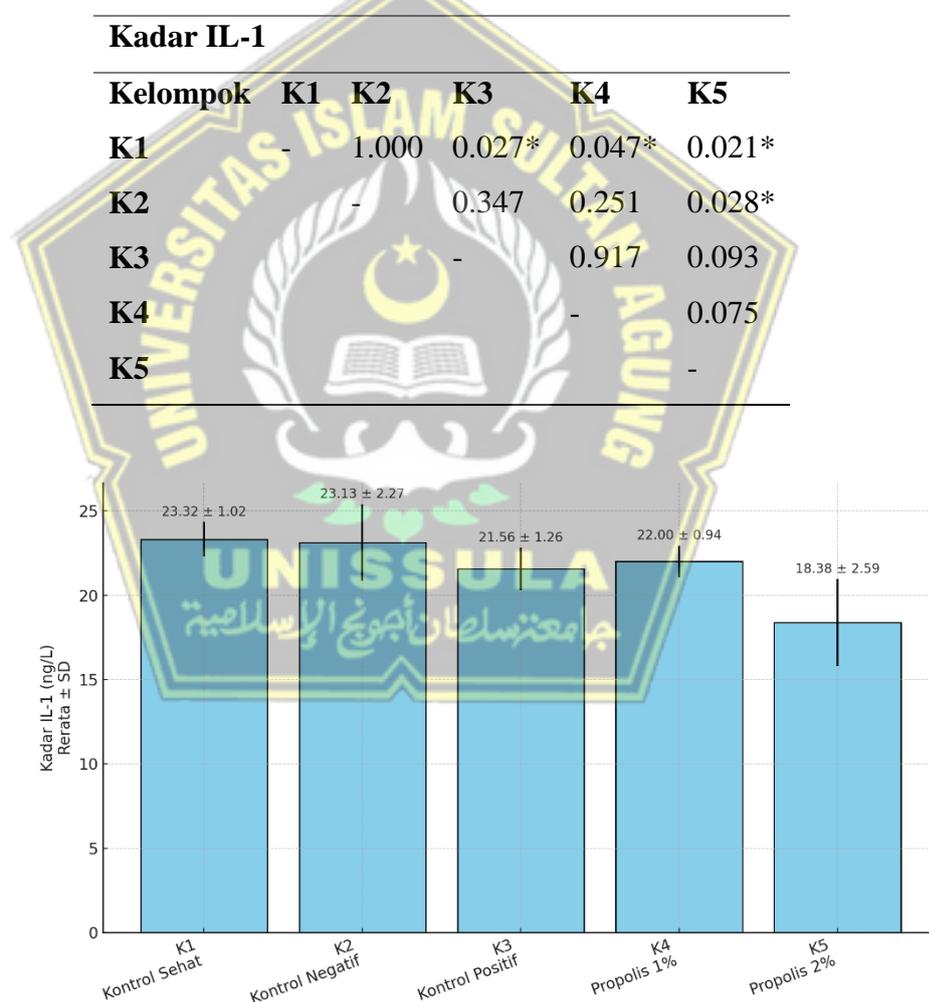
Keterangan:

\* : terdapat perbedaan bermakna

Berdasarkan Tabel 5.2, hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan adanya perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) pada pasangan kelompok K1–K3, K1–K4, K1–K5, dan K2–K5. Hasil ini mengindikasikan bahwa kelompok K5 (perlakuan serum ekstrak propolis 2%) memiliki kadar IL-1 yang signifikan lebih rendah

dibandingkan kelompok sehat (K1), kontrol negatif (K2), maupun kontrol positif (K3). Temuan tersebut diperkuat oleh Gambar 5.2, yang menampilkan diagram rerata kadar IL-1 sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 5.1. Dari visualisasi tersebut tampak jelas bahwa penurunan kadar IL-1 paling nyata terjadi pada kelompok K5, sehingga dapat disimpulkan bahwa propolis 2% memberikan efek antiinflamasi yang lebih kuat dibandingkan propolis 1% maupun klindamisin topikal.

**Tabel 5.2** Hasil Uji *Mann-Whitney* terhadap Rerata Kadar IL-1



**Gambar 5.2** Grafik Rerata Kadar IL-1 pada Jaringan Kulit Mencit

### 5.1.3 Hasil Analisis Kadar VEGF pada Jaringan Kulit Mencit

Rerata kadar VEGF pada jaringan kulit mencit menunjukkan variasi antar kelompok. Nilai tertinggi diperoleh pada kelompok K5 ( $2073,06 \pm 82,43$ ), diikuti K4 ( $1870,84 \pm 39,83$ ), K3 ( $1670,90 \pm 123,27$ ), K1 ( $1571,58 \pm 119,37$ ), sedangkan nilai terendah terdapat pada K2 ( $1550,68 \pm 61,96$ ). Uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* menghasilkan  $p < 0,05$  pada seluruh kelompok, sehingga dapat disimpulkan bahwa data tidak berdistribusi normal. Uji homogenitas varians menggunakan *Levene's Test* memberikan nilai  $p = 0,068$  ( $p > 0,05$ ), yang berarti varians antar kelompok bersifat homogen. Karena asumsi normalitas tidak terpenuhi, analisis dilanjutkan menggunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*. Hasil analisis menunjukkan  $p < 0,001$  ( $p < 0,05$ ), yang menegaskan adanya perbedaan bermakna kadar VEGF antar kelompok perlakuan.

**Tabel 5.3** Hasil Rerata Kadar VEGF pada Jaringan Kulit Mencit

Variabel	Kelompok					p value
	K1	K2	K3	K4	K5	
	Mean±SD n=5	Mean±SD n=5	Mean ±SD n=5	Mean ± SD n=5	Mean ± SD n=5	
<b>Kadar VEGF (ng/L)</b>	1571.58 ± 119.37	1550.68 ± 61.96	1670.90 ± 123.27	1870.84 ± 39.83	2073.06 ± 82.43	
<i>Saphiro Wilk</i>	0.012	0.009	0.043	0.013	0.032	
<i>Levene's Test</i>						0.068
<i>Kruskal Wallis</i>						<0.001*

Keterangan:

\* : terdapat perbedaan bermakna

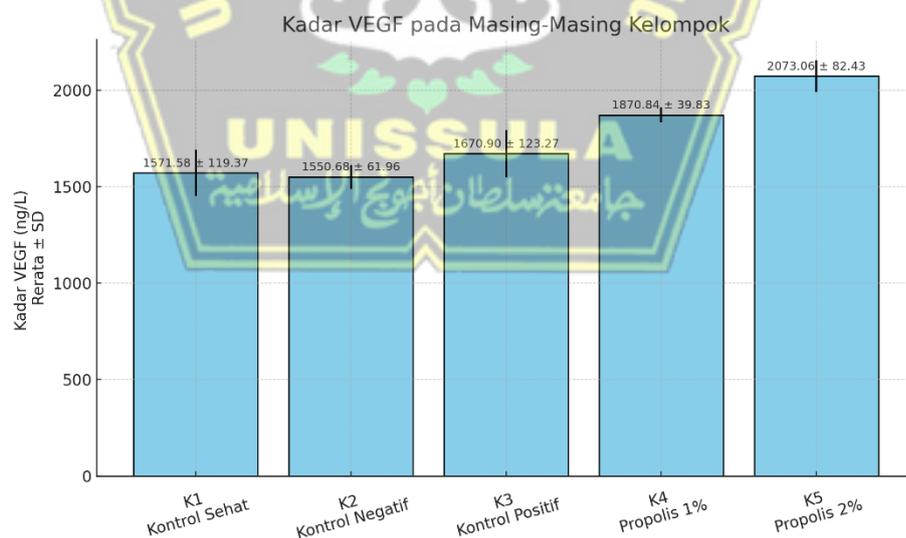
Hasil uji *Mann-Whitney* pada tabel 5.4 menunjukkan terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) kadar VEGF pada pasangan K1–K4, K1–K5, K2–K4, K2–K5,

K3–K4, K3–K5 dan K4–K5. Sebaliknya, tidak ditemukan perbedaan signifikan ( $p>0,05$ ) pada pasangan K1–K2, K1–K3, serta K2–K3. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa kadar VEGF pada kelompok perlakuan propolis, baik 1% maupun 2%, berbeda signifikan dibandingkan kelompok sehat, kontrol negatif, maupun kontrol positif, dengan nilai tertinggi ditunjukkan oleh kelompok K5.

**Tabel 5.4** Hasil Uji *Mann-Whitney* terhadap Rerata Kadar VEGF

Kadar VEGF					
Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5
K1	-	0.602	0.175	0.009*	0.009*
K2	-	-	0.117	0.009*	0.009*
K3	-	-	-	0.009*	0.009*
K4	-	-	-	-	0.009*
K5	-	-	-	-	-

Keterangan:  
\* : berpengaruh signifikan



**Gambar 5.3** Grafik Rerata Kadar VEGF pada Jaringan Kulit Mencit

## 5.2 Pembahasan

Paparan infeksi *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) pada kulit dapat memicu respons imun bawaan yang penting, yang dimediasi melalui pengenalan pola molekuler terkait patogen atau *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) oleh reseptor pengenalan pola atau *pattern recognition receptors* (PRRs). Di antara PRRs yang paling penting adalah *Toll-like receptor 2* (TLR2), yang ditemukan pada berbagai sel kulit, termasuk keratinosit, sel Langerhans, dan makrofag. Aktivasi TLR2 memulai serangkaian sinyal intraseluler yang melibatkan protein-protein penting seperti *myeloid differentiation primary response 88* (MyD88) dan *IL-1 receptor-associated kinase* (IRAK), yang pada akhirnya mengaktifkan faktor transkripsi utama, yakni *nuclear factor kappa B* (NF- $\kappa$ B) dan *activator protein-1* (AP-1).<sup>58</sup>

Faktor-faktor transkripsi ini mengarah pada peningkatan ekspresi berbagai gen proinflamasi, termasuk *interleukin-1 beta* (IL-1 $\beta$ ), IL-6, TNF- $\alpha$ , dan IL-8, yang berperan dalam proses inflamasi pada kulit. IL-1, khususnya, memainkan peran penting dalam merangsang proliferasi keratinosit, menarik neutrofil melalui kemokin, serta meningkatkan produksi enzim proteolitik seperti *matris metalloproteinase* (MMP), yang dapat merusak struktur dinding folikel rambut. Pada kondisi jerawat, yang ditandai dengan inflamasi kronis, pengendalian kadar IL-1 menjadi salah satu target utama dalam terapi, karena produksi IL-1 yang berlebihan dapat memperpanjang fase inflamasi, memperburuk gejala seperti eritema, serta menghambat proses resolusi dan penyembuhan lesi.<sup>59,60</sup>

Serum ekstrak propolis, yang kaya akan senyawa bioaktif seperti flavonoid (quercetin, pinocembrin, galangin), asam fenolat (seperti asam caffeic dan asam ferulat), serta *caffeic acid phenethyl ester* (CAPE), telah diketahui memiliki berbagai manfaat terapeutik. Senyawa-senyawa ini menunjukkan sifat antiinflamasi yang kuat, di antaranya dengan menghambat aktivasi jalur NF- $\kappa$ B, yang merupakan jalur utama dalam respons inflamasi tubuh.<sup>61</sup> Selain itu, flavonoid dalam propolis juga bertindak sebagai antioksidan kuat yang menetralkan *reactive oxygen species* (ROS), yang berperan dalam memperburuk inflamasi dan memperkuat aktivasi NF- $\kappa$ B.<sup>62</sup> Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa propolis dapat menurunkan kadar IL-1 pada jaringan yang mengalami inflamasi baik dalam inflamasi akut maupun kronis. Oleh karena itu, propolis berpotensi menjadi agen terapeutik yang efektif dalam mengelola jerawat dengan mengurangi peradangan sekaligus mendukung proses penyembuhan kulit.<sup>63</sup>

Pada penelitian ini, kadar IL-1 tertinggi ditemukan pada kelompok sehat, sedangkan kadar terendah pada kelompok perlakuan propolis 2%. Analisis lebih lanjut menunjukkan bahwa kelompok propolis 2% memiliki perbedaan signifikan dibandingkan kelompok sehat maupun kontrol negatif. Hasil ini menunjukkan bahwa propolis konsentrasi 2% berpotensi sebagai agen antiinflamasi yang efektif dalam menurunkan kadar IL-1. Perlu dicatat bahwa kadar IL-1 yang lebih tinggi pada kelompok sehat dibandingkan kontrol dapat disebabkan oleh adanya IL-1 $\alpha$  basal yang memang diproduksi kulit dalam kondisi fisiologis sebagai bagian dari homeostasis maupun akibat trauma mekanis ringan antar-mencit dalam kandang. Selain itu, pada kelompok kontrol acne, meskipun terdapat inflamasi akibat paparan

*C. acnes*, pengukuran pada hari ke-7 kemungkinan telah menangkap fase resolusi inflamasi di mana tubuh meningkatkan produksi IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra), sehingga kadar IL-1 yang terukur menjadi relatif lebih rendah. Metode ELISA yang digunakan dalam penelitian ini juga mendeteksi total IL-1, bukan secara spesifik IL-1 $\beta$ , sehingga interpretasi hasil perlu dilakukan dengan hati-hati. IL-1 merupakan sitokin proinflamasi yang berperan penting dalam tahap awal respons imun terhadap infeksi, termasuk infeksi akibat *Cutibacterium acnes* pada lesi jerawat. Pada kondisi jerawat, peningkatan kadar IL-1 berkontribusi pada peradangan yang memperburuk gejala, seperti kemerahan (eritema), pembengkakan, dan pembentukan komedo serta lesi. IL-1 juga dapat meningkatkan ekspresi kemokin yang menarik neutrofil dan sel-sel inflamasi lainnya ke area infeksi, serta merangsang aktivitas enzim proteolitik seperti *matriks metalloproteinase* (MMP) yang merusak dinding folikel rambut.<sup>59,64</sup>

Mekanisme aksi propolis yang dapat mengurangi kadar IL-1 terkait dengan kemampuan senyawa bioaktif dalam propolis, seperti flavonoid dan asam fenolat, dalam menghambat aktivasi jalur NF- $\kappa$ B. NF- $\kappa$ B adalah faktor transkripsi yang berperan besar dalam mengatur ekspresi gen proinflamasi, termasuk IL-1. Senyawa dalam propolis, seperti quercetin dan CAPE, diketahui dapat mencegah degradasi I $\kappa$ B $\alpha$ , sehingga menghambat translokasi NF- $\kappa$ B ke inti sel dan mengurangi produksi IL-1. Selain itu, flavonoid bertindak sebagai antioksidan yang mengurangi jumlah *reactive oxygen species* (ROS), yang diketahui dapat memperburuk inflamasi dan memperkuat aktivasi NF- $\kappa$ B.<sup>62,63</sup>

Secara keseluruhan, penurunan kadar IL-1 pada kelompok yang diberi propolis, khususnya pada konsentrasi 2% yang menunjukkan perbedaan signifikan dibandingkan kelompok sehat dan kontrol negatif, mengindikasikan bahwa propolis dapat berfungsi sebagai agen modulator inflamasi dengan cara menghambat jalur sinyal yang mengarah pada produksi IL-1. Walaupun efek penurunannya belum maksimal dalam durasi penelitian yang relatif singkat (7 hari), hasil ini menunjukkan potensi propolis untuk mengurangi inflamasi pada tahap awal infeksi *C. acnes*, yang sangat penting dalam mencegah perkembangan jerawat lebih lanjut.<sup>63,64</sup>

Selain efek antiinflamasi, propolis juga menunjukkan kemampuan untuk merangsang angiogenesis, yang tercermin dari peningkatan kadar VEGF pada kelompok yang diberi perlakuan propolis 1% dan 2%. Hasil ini menunjukkan bahwa propolis berperan dalam menstimulasi angiogenesis yang sangat penting untuk mempercepat perbaikan jaringan.<sup>65</sup> VEGF merupakan faktor pertumbuhan utama dalam pembentukan pembuluh darah baru, yang menyediakan oksigen dan nutrisi ke jaringan yang sedang mengalami regenerasi.<sup>65</sup> Pada lesi jerawat, proses angiogenesis sangat penting untuk mengurangi hipoksia lokal (kekurangan oksigen), yang sering terjadi akibat inflamasi yang terjadi dalam folikel rambut yang terinfeksi *C. acnes*.<sup>66</sup> Dengan adanya peningkatan pembentukan pembuluh darah baru, proses penyembuhan jaringan menjadi lebih cepat dan lebih efisien. Mekanisme peningkatan VEGF oleh propolis terkait dengan senyawa-senyawa bioaktif dalam propolis, terutama flavonoid, yang dapat mengaktifkan jalur PI3K/Akt dan HIF-1 $\alpha$  (*Hypoxia-Inducible Factor 1-alpha*). Aktivasi HIF-1 $\alpha$  terjadi

pada kondisi hipoksia lokal atau melalui stimulasi senyawa polifenol yang ada dalam propolis. Aktivasi HIF-1 $\alpha$  ini meningkatkan ekspresi VEGF, yang kemudian merangsang pembentukan pembuluh darah baru.<sup>61,63,67</sup>

Peningkatan VEGF ini tidak hanya mendukung proses penyembuhan jaringan yang lebih cepat, tetapi juga memperbaiki kualitas jaringan granulasi dengan pembuluh darah yang lebih padat. Hal ini sangat penting pada lesi jerawat, di mana penggantian jaringan yang rusak akibat inflamasi dapat dipercepat, sehingga mengurangi waktu yang dibutuhkan untuk penyembuhan dan menghindari pembentukan jaringan parut yang permanen.<sup>68,69</sup> Propolis, melalui peningkatan VEGF, memberikan kontribusi penting dalam mendukung regenerasi kulit setelah lesi jerawat. Mekanisme pro-angiogenik ini dapat meningkatkan proses penyembuhan luka, mendukung migrasi fibroblas, dan mempercepat proses deposisi kolagen di area yang rusak. Dengan demikian, selain berfungsi sebagai agen antiinflamasi, propolis juga dapat mempercepat perbaikan jaringan melalui stimulasi angiogenesis.<sup>65,70</sup>

Hasil penelitian juga menunjukkan adanya beberapa pasangan kelompok yang tidak berbeda signifikan, misalnya K1–K2 dan K4–K5 pada IL-1. Kondisi ini kemungkinan berkaitan dengan derajat inflamasi yang relatif serupa atau karena kedua kelompok sudah mencapai kadar IL-1 mendekati fisiologis, meskipun secara numerik propolis 2% lebih rendah. Selain itu, adanya pasangan yang signifikan hanya pada salah satu marker, seperti K1–K4 pada VEGF tetapi tidak pada IL-1, mencerminkan perbedaan sifat biologis kedua biomarker tersebut. IL-1 merupakan sitokin dengan regulasi imun yang kompleks dan sangat bervariasi antar individu,

sedangkan VEGF lebih langsung dipengaruhi oleh status vaskularisasi dan hipoksia lokal. Dengan demikian, propolis 1% mungkin cukup efektif dalam menstimulasi angiogenesis, tetapi belum optimal dalam menekan ekspresi IL-1 hingga signifikan.

Perubahan berat badan mencit yang signifikan sebelum dan sesudah perlakuan berpotensi berkorelasi dengan dinamika kadar sitokin dan faktor pertumbuhan yang diamati. Status metabolik diketahui dapat memodulasi respons imun melalui regulasi produksi sitokin proinflamasi, termasuk IL-1, serta memengaruhi jalur angiogenik seperti ekspresi VEGF. Dengan demikian, penurunan IL-1 dan peningkatan VEGF yang teramati pada kelompok propolis tidak hanya mencerminkan aktivitas bioaktif propolis, tetapi juga dapat dipengaruhi oleh kondisi fisiologis hewan uji, terutama yang berkaitan dengan perubahan berat badan. Temuan ini menunjukkan adanya interaksi kompleks antara faktor nutrisi, metabolisme, dan respons inflamasi maupun regeneratif pada model *acne-like*.<sup>71,72</sup>

Salah satu keterbatasan penelitian ini adalah adanya perubahan berat badan mencit yang cukup signifikan selama periode perlakuan. Kondisi ini berpotensi memengaruhi status metabolik dan fisiologis hewan uji, yang pada gilirannya dapat memberikan kontribusi terhadap variasi respons inflamasi maupun angiogenik. Faktor ini dapat menjadi variabel perancu dalam interpretasi hasil, khususnya terkait kadar sitokin proinflamasi seperti IL-1 dan faktor pertumbuhan seperti VEGF. Penelitian lanjutan perlu mempertimbangkan kontrol yang lebih ketat terhadap status metabolik dan kondisi fisiologis hewan, sehingga pengaruh propolis terhadap inflamasi dan penyembuhan jaringan dapat dinilai secara lebih akurat.

Seiring dengan temuan tersebut, penelitian lebih lanjut sangat diperlukan untuk mengeksplorasi lebih dalam potensi propolis dalam mempercepat penyembuhan lesi jerawat melalui mekanisme pro-angiogenik dan antiinflamasi. Dengan memperpanjang durasi pemberian perlakuan propolis, misalnya selama 2 hingga 3 minggu, diharapkan dapat terlihat efek yang lebih signifikan dalam memperbaiki kualitas jaringan granulasi dan mempercepat proses penyembuhan. Penelitian lanjutan juga dapat memperluas analisis dengan mengevaluasi parameter lain yang berpengaruh terhadap kualitas perbaikan jaringan, seperti analisis histologi untuk melihat perubahan pada komposisi kolagen atau marker inflamasi lainnya. Desain percobaan dengan uji pre- dan post-test akan memberikan gambaran lebih jelas mengenai perubahan yang terjadi pada lesi jerawat sebelum dan sesudah perlakuan propolis, serta membantu mengidentifikasi faktor-faktor eksternal atau genetik yang dapat mempengaruhi hasil terapi. Selain itu, penggunaan propolis dari berbagai sumber lokal juga patut untuk diteliti guna membandingkan efektivitasnya, sehingga dapat memberikan rekomendasi terapi yang lebih tepat dan berbasis pada sumber daya alami yang ada di Indonesia.

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1 Kesimpulan**

Kesimpulan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Kadar IL-1 pada kelompok serum ekstrak propolis 2% lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol.
- 2) Kadar VEGF pada kelompok serum ekstrak propolis 2% lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol.
- 3) Kadar IL-1 dan VEGF pada kelompok ekstrak propolis 2% lebih rendah signifikan dibandingkan dengan kelompok serum ekstrak propolis 1%.

#### **6.2 Saran**

- 1) Penelitian lanjutan dengan durasi perlakuan lebih lama dan peningkatan dosis dapat dilakukan untuk mengevaluasi efek serum ekstrak propolis secara maksimal kadar IL-1 dan peningkatan VEGF.
- 2) Perlu dilakukan analisis lebih lanjut terhadap parameter histologi jaringan, seperti komposisi kolagen dan kualitas jaringan granulasi, untuk menilai perbaikan jaringan pada lesi jerawat pasca pemberian serum ekstrak propolis serta penggunaan marker ELISA yang lebih spesifik untuk IL-1 $\beta$  agar dapat menggambarkan proses inflamasi secara lebih akurat.
- 3) Penelitian dengan desain uji *pre-test* dan *post-test* disarankan untuk mengetahui perbedaan signifikan antara kelompok sebelum dan sesudah perlakuan, serta untuk mengidentifikasi faktor-faktor eksternal yang dapat mempengaruhi hasil terapi, seperti faktor genetik atau lingkungan pada model mencit.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Madelina W, Sulistiyaningsih. Review: Resistensi Antibiotik pada Terapi Pengobatan Jerawat. *Jurnal Farmaka*. 2018;16:105–17.
2. Xu W, Xu J, Huang D, Wang C, Song J, Chen X, et al. Acne vulgaris: advances in pathogenesis and prevention strategies. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2025;44:515–32.
3. Otlewska A, Baran W, Batycka-Baran A. Adverse events related to topical drug treatments for acne vulgaris. *Expert Opin Drug Saf*. 2020;19:513–21.
4. Reynolds R V., Yeung H, Cheng CE, Cook-Bolden F, Desai SR, Druby KM, et al. Guidelines of care for the management of acne vulgaris. *J Am Acad Dermatol*. 2024;90:1006.e1-1006.e30.
5. Goodarzi A, Mozafarpour S, Bodaghabadi M, Mohamadi M. The potential of probiotics for treating acne vulgaris: A review of literature on acne and microbiota. *Dermatol Ther*. 2020;33.
6. Muhammad Faqih Ashiddiq Nursyamsi Mansyur, Widayanti, Abdul Hadi Hassan. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Propolis Trigona spp. terhadap Pertumbuhan Cutibacterium Acnes. *Bandung Conference Series: Medical Science*. 2025;5:1473–80.
7. Sahlan M, Mahira KF, Pratami DK, Rizal R, Ansari MJ, Al-Anazi KM, et al. The cytotoxic and anti-inflammatory potential of Tetragonula sapiens propolis from Sulawesi on raw 264.7 cell lines. *J King Saud Univ Sci*. 2021;33:101314.
8. Nadrah Naim Tuan Ismail T, Amrah Sulaiman S, Thirumulu Ponnuraj K, Termizi Hassan M, Badriah Hassan N. Antimicrobial Activity of Malaysian Apis mellifera Propolis against Propionibacterium acnes. *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences*. 2022;18:2636–9346.
9. Wulandari DT, Supomo S, Warnida H. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Propolis dari Lebah Kelulut (Heterotrigona itama) terhadap Bakteri Pseudomonas aeruginosa dan Staphylococcus aureus. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*. 2023;11:1933.

10. Wattanuruk D, Matintarangson N. Antioxidant and Anti-acne Activities of Stingless Bee Honey and Propolis Extract. *Journal of Food Health and Bioenvironmental Science*. 2024;17:1–10.
11. Saputro AA, Nasihun T, Hussaana A. Propolis Extracted Using CMCE Decreases TNF- $\alpha$  and C-Reactive Protein level of CCl<sub>4</sub>- Induced Liver Damage in Rats. 2021;11:1–6.
12. Balderas-Cordero D, Canales-Alvarez O, Sánchez-Sánchez R, Cabrera-Wrooman A, Canales-Martinez MM, Rodriguez-Monroy MA. Anti-Inflammatory and Histological Analysis of Skin Wound Healing through Topical Application of Mexican Propolis. *Int J Mol Sci*. 2023;24:1–19.
13. El-Kersh DM, El-Ezz RFA, Ramadan E, El-Kased RF. In vitro and in vivo burn healing study of standardized propolis: Unveiling its antibacterial, antioxidant and antiinflammatory actions in relation to its phytochemical profiling. *PLoS One*. 2024;19:1–28.
14. Mazzarello V, Donadu M, Ferrari M, Piga G, Usai D, Zanetti S, et al. Treatment of acne with a combination of propolis, tea tree oil, and Aloe vera compared to erythromycin cream: two double-blind investigations. *Clin Pharmacol*. 2018;10:175–81.
15. Wulandari P, Maharani J, Zuhendri F, et al. The potential of propolis extract gel Kabanjahe Kelulut bee as an anti-inflammatory agent in periodontal treatment : eksperimental laboratory study agen anti inflamasi pada perawatan periodontal : 2024;36:133–40.
16. Ayhan E, Aslan Ö, Araç E. Effect of isotretinoin (13-cis-retinoic acid) on levels of soluble VEGF receptors (sVEGFR1, sVEGFR2, sVEGFR3) in patients with acne vulgaris. *Journal of Dermatological Treatment*. 2021;32:936–40.
17. Jang YH, Lee KC, Lee SJ, Kim DW, Lee WJ. HR-1 Mice: A New Inflammatory Acne Mouse Model. *Ann Dermatol*. 2015;27:257.
18. Amita HS, Masood S, Haitham MS, Schlessinger J. Acne Vulgaris. In: NCBI Bookshelf: Startpearls. 2023.

19. Eichenfield DZ, Sprague J, Eichenfield LF. Management of Acne Vulgaris: A Review. *JAMA*. 2021;326:2055–67.
20. Motosko CC, Zakhem GA, Pomeranz MK, Hazen A. Acne: a side-effect of masculinizing hormonal therapy in transgender patients. *Br J Dermatol*. 2019;180:26–30.
21. Snast I, Dalal A, Twig G, Astman N, Kedem R, Levin D, et al. Acne and obesity: A nationwide study of 600,404 adolescents. *J Am Acad Dermatol*. 2019;81:723–9.
22. Maulida Y, Topik MM. Penanganan Acne Vulgaris Terkini. *Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan dan Kedokteran*. 2024;2:98–111.
23. Astrid Teresa. Akne Vulgaris Dewasa: Etiologi, Patogenesis Dan Tatalaksana Terkini. *Jurnal Kedokteran Universitas Palangka Raya*. 2020;8:952–64.
24. Agrawal DA, Khunger N. A Morphological Study of Acne Scarring and Its Relationship between Severity and Treatment of Active Acne. *J Cutan Aesthet Surg*. 2020;13:210–6.
25. Elizabeth J, Tan ST, Angelika M, Firmansyah Y, Sylvana Y, Novendy N. Penurunan Derajat Akne Vulgaris Setelah Penggunaan Kombinasi Krim Anti Akne Di Jakarta Barat. *Jurnal Muara Sains, Teknologi, Kedokteran dan Ilmu Kesehatan*. 2021;5:19.
26. Yenny SW. Antibiotic Resistaince in Acne Vulgaris. *Dermatovenereology Department of dr M Djamil Hospital Padang, West Sumatera, Indonesia*. 2019;1–25.
27. Agustin M. Hubungan Antara Derajat Keparahan Akne Vulgaris Dengan Tingkat Kualitas Hidup Pada Siswa Kelas Viii Dan Ix Madrasah Tsanawiyah Pembangunan Uin Jakarta Tahun Ajaran 2016-2017. *Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta*. 2016. 28 p.
28. Boraschi D. What Is IL-1 for? The Functions of Interleukin-1 Across Evolution. *Front Immunol*. 2022;13:872155.
29. Dahlan NH, Sitohang IBS, Indriatmi W, Wibowo H, Enggy LE. Correlation Between Reduced IL-1 $\beta$  Levels in Acne Lesions and the Decrease in Acne

- Inflammatory Lesions Following Topical Vitamin D Administration: A Double-Blind Randomized Controlled Trial. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* . 2024;17:2183–95.
30. Thanh LT Van, Anh LV, Giang TH, Hung TQ, Trung VT, Vuong NL. Immunohistochemical expression of interleukin 1 beta in papule biopsies from patients with acne vulgaris. *Dermatol Reports*. 2022;14:9444.
  31. Akoglu G, Tan C, Ayvaz DC, Tezcan I. Tumor necrosis factor  $\alpha$ -308 G/A and interleukin 1  $\beta$ -511 C/T gene polymorphisms in patients with scarring acne. *J Cosmet Dermatol*. 2019;18:395–400.
  32. ElAttar Y, Mourad B, Alngomy HA, Deen AS El, MD MI. Study of interleukin- 1 beta expression in acne vulgaris and acne scars. *J Cosmet Dermatol*. 2022;22.
  33. Wilgus TA. Vascular Endothelial Growth Factor and Cutaneous Scarring. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2019;8:671–8.
  34. Mohammed TF, Qadir FA. Detection of IL-1 $\beta$ , VEGF and IL-4 with their novel genetic variations in breast cancer patients. *Saudi J Biol Sci*. 2023;30:103544.
  35. Ghavamipour F, Rahmani H, Shanehsaz M, Khajeh K, Mirshahi M, Sajedi RH. Enhanced sensitivity of VEGF detection using catalase-mediated chemiluminescence immunoassay based on CdTe QD/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system. *J Nanobiotechnology*. 2020;18:93.
  36. Zhu M, Li N, Wang Y, Gao S, Wang J, Shen X. Regulation of inflammation by VEGF/BDNF signaling in mouse retinal Müller glial cells exposed to high glucose. *Cell Tissue Res*. 2022;388:521–33.
  37. Xiao L, Wang Z, Lu N, He Y, Qiao L, Sheng X, et al. GPER mediates the IL6/JAK2/STAT3 pathway involved in VEGF expression in swine ovary GCs. *J Mol Endocrinol*. 2022;68:23–33.
  38. Rouvier F, Abou L, Wafo E, Andre P, Cheyrol J, Khacef MM, et al. Identification of 2,4-Di-tert-Butylphenol as an Antimicrobial Agent Against *Cutibacterium acnes* Bacteria from Rwandan Propolis. *Antibiotics*. 2024;13:1080.

39. Hossain R, Quispe C, Khan RA, Saikat ASM, Ray P, Ongalbek D, et al. Propolis: An update on its chemistry and pharmacological applications. *Chin Med*. 2022;17:100.
40. Anjum SI, Ullah A, Khan KA, Attaullah M, Khan H, Ali H, et al. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi J Biol Sci*. 2019;26:1695–703.
41. Matuszewska E, Klupczynska A, Maciołek K, Kokot ZJ, Matysiak J. Multielemental Analysis of Bee Pollen, Propolis, and Royal Jelly Collected in West-Central Poland. *Molecules*. 2021;26.
42. Afrasiabi S, Pourhajibagher M, Chiniforush N, Bahador A. Propolis nanoparticle enhances the potency of antimicrobial photodynamic therapy against *Streptococcus mutans* in a synergistic manner. *Sci Rep*. 2020;10:15560.
43. Zullkiflee N, Taha H, Usman A. Propolis: Its Role and Efficacy in Human Health and Diseases. *Molecules*. 2022;27.
44. Mulyati AH, Sulaeman A, Marliyati A, Rafi M, Rokhmah UF. Macro and Micronutrient Content of Raw Propolis Collected from Different Regions in Indonesia. *J Gizi Pangan*. 2021;16:109–14.
45. Abdullah NA, Zullkiflee N, Zaini SNZ, Taha H, Hashim F, Usman A. Phytochemicals, mineral contents, antioxidants, and antimicrobial activities of propolis produced by Brunei stingless bees *Geniotrigona thoracica*, *Heterotrigona itama*, and *Tetrigona binghami*. *Saudi J Biol Sci*. 2020;27:2902–11.
46. Przybyłek I, Karpiński TM. Antibacterial Properties of Propolis. *Molecules*. 2019;24.
47. Kharsany K, Viljoen A, Leonard C, van Vuuren S. The new buzz: Investigating the antimicrobial interactions between bioactive compounds found in South African propolis. *J Ethnopharmacol*. 2019;238:111867.
48. Zuhendri F, Lesmana R, Tandean S, Christopher A, Chandrasekaran K, Irsyam I, et al. Recent Update on the Anti-Inflammatory Activities of Propolis. *Molecules*. 2022;27.

49. Hsieh CY, Li LH, Rao YK, Ju TC, Nai YS, Chen YW, et al. Mechanistic insight into the attenuation of gouty inflammation by Taiwanese green propolis via inhibition of the NLRP3 inflammasome. *J Cell Physiol.* 2019;234:4081–94.
50. Hegazi AG, El-Houssiny AS, Sadek WMA, Al-Guthami FM, Al-Gethami AFM, Sadik AMA, et al. Egyptian Propolis 13: Influence of Propolis and Alginate Propolis NPs on Egyptian-Nubian Goats Serum Immunoglobulins and Cytokines Level. *Adv Anim Vet Sci.* 2021;9:280–8.
51. Conte FL, Santiago KB, Conti BJ, Cardoso E de O, Oliveira LPG, Feltran G da S, et al. Propolis from southeastern Brazil produced by *Apis mellifera* affects innate immunity by modulating cell marker expression, cytokine production and intracellular pathways in human monocytes. *J Pharm Pharmacol.* 2021;73:135–44.
52. Barros KBNT, Neto EMR, Fonteles MM de F. Propolis and its Cosmetic Applications: A Technological Prospection. *Journal of Young Pharmacists.* 2019;11:350–2.
53. Zhang H, Liu L, Jiang C, Pan K, Deng J, Wan C. MMP9 protects against LPS-induced inflammation in osteoblasts. *Innate Immun.* 2020;26:259–69.
54. Mojarab S, Shahbazzadeh D, Moghbeli M, Eshraghi Y, Bagheri KP, Rahimi R, et al. Immune responses to HIV-1 polytope vaccine candidate formulated in aqueous and alcoholic extracts of Propolis: Comparable immune responses to Alum and Freund adjuvants. *Microb Pathog.* 2020;140:103932.
55. Ernawati DS, Puspa A. Expression of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-9 in *Apis mellifera* Lawang propolis extract gel-treated traumatic ulcers in diabetic rats. *Vet World.* 2018;11:304–9.
56. Hossain R, Quispe C, Khan RA, Saikat ASM, Ray P, Ongalbek D, et al. Propolis: An update on its chemistry and pharmacological applications. *Chin Med.* 2022;17:100.
57. Tanessa M, Ginting CN, Chiuman L, Masdalena, Hutagalung MHP. Evaluation of the anti-acne effectiveness of Andaliman (*Zanthoxylum*

- acanthopodium DC) nanoemulgel in propionibacterium acnes-induced male wistar rats. *Jurnal Teknologi Laboratorium*. 2024;13:126–34.
58. Zhang B, Choi YM, Lee J, An IS, Li L, He C, et al. Toll-like receptor 2 plays a critical role in pathogenesis of acne vulgaris. *Biomedical Dermatology*. 2019;3.
59. Askari N, Ghazanfari T, Yaraee R, Vaez Mahdavi MR, Soroush MR, Mohammad Hassan Z, et al. Association between Acne and Serum Pro-inflammatory Cytokines (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1Ra, IL-6, IL-8, IL-12 and RANTES) in Mustard Gas-Exposed Patients: Sardasht-Iran Cohort Study. *Arch Iran Med*. 2017;20:86–91.
60. Mukherjee S, Karmakar S, Babu SPS. TLR2 and TLR4 mediated host immune responses in major infectious diseases: A review. Vol. 20, *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. Elsevier Editora Ltda; 2016. p. 193–204.
61. Šuran J, Capanec I, Mašek T, Radić B, Radić S, Gajger IT, et al. Propolis extract and its bioactive compounds—from traditional to modern extraction technologies. Vol. 26, *Molecules*. MDPI AG; 2021.
62. Kurek-Górecka A, Klósek M, Pietsz G, Czuba ZP, Kolayli S, Can Z, et al. The Phenolic Profile and Anti-Inflammatory Effect of Ethanolic Extract of Polish Propolis on Activated Human Gingival Fibroblasts-1 Cell Line. *Molecules*. 2023;28.
63. Zulhendri F, Lesmana R, Tandean S, Christoper A, Chandrasekaran K, Irsyam I, et al. Recent Update on the Anti-Inflammatory Activities of Propolis. *Molecules*. 2022;27.
64. ElAttar Y, Mourad B, Alngomy HA, Shams El Deen A, Ismail M. Study of interleukin-1 beta expression in acne vulgaris and acne scars. *J Cosmet Dermatol*. 2022;21:4864–70.
65. Nindra B, Sungkar A, Yarsa KY, Wasita B. Indonesian Propolis Extract Acts as Antioxidant in Angiogenesis Based on Microvascular Density and Vascular Endothelial Growth Factor Assay: An Experimental Study in Skin Graft Murine Model [Internet]. Vol. 5, *Asian Journal of Research in Surgery*. 2021. Available from: <http://www.sdiarticle4.com/review-history/67398>

66. Xu W, Zhang Y, Sinaki DG, Zhang Z, Tang Y, Chen Y. Acne-induced pathological scars: pathophysiology and current treatments. Vol. 12, Burns and Trauma. Oxford University Press; 2024.
67. Zhao D, Wang Y, Wu S, Ji X, Gong K, Zheng H, et al. Research progress on the role of macrophages in acne and regulation by natural plant products. Vol. 15, Frontiers in Immunology. Frontiers Media SA; 2024.
68. Jeong DH, Ahn MR. The Mechanism of Antiangiogenic Effects of Korean Propolis in Human Umbilical Vein Endothelial Cells. Journal of Apiculture. 2023;38:359–66.
69. Ernawati DS, Puspa A. Expression of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-9 in Apis mellifera Lawang propolis extract gel-treated traumatic ulcers in diabetic rats. Vet World. 2018;11:304–9.
70. Tangke Arung E, Syafrizal S, Kusuma IW, Paramita S, Amen Y, Kim YU, et al. Antioxidant, Anti Inflammatory and Anti Acne Activities of Stingless Bee (Tetragonula Biroi) Propolis. SSRN Electronic Journal. 2022;
71. Abdelhamid EM, Saleh AA, Sayed RA El, Nazmy NN. Relation Between Acne and Different Body Weight [Internet]. Benha Journal of Applied Sciences. 2024. Available from: <http://bjas.bu.edu.eg>
72. Baldwin H, Tan J. Effects of Diet on Acne and Its Response to Treatment. Vol. 22, American Journal of Clinical Dermatology. Adis; 2021. p. 55–65.