

**PENGARUH SERUM EKSTRAK PROPOLIS
TERHADAP KADAR MMP-9 DAN IL-6 PADA MODEL
*ACNE-LIKE***

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

TESIS

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister
(S2)



Magister Ilmu Biomedik

Sheila Nurkhalesa

MBK2423010468

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG 2025

TESIS

PENGARUH SERUM EKSTRAK PROPOLIS TERHADAP KADAR MMP-9 DAN IL-6 PADA MODEL ACNE-LIKE
(Studi Eksperimental pada Mencit Jantan yang dipapar *Cutibacterium acnes*)

disusun oleh:

Sheila Nurkhalesa

MBK2423010468

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
NIP. 210198046

Dr. dr. Minidian F., M.Sc, Sp.GK (K)
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 di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/ tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 25 Agustus 2025



(Sheila Nurkhalesa)

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Sheila Nurkhalesa
Tempat / Tanggal Lahir : Kediri, 12 Maret 1992
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. SDI AL-HUDA Kediri : Lulus tahun 2004
2. SMP Negeri 1 Kediri : Lulus tahun 2007
3. SMA Negeri 1 Kediri : Lulus tahun 2010
4. S1 Kedokteran UNIVERSITAS JEMBER : Lulus tahun 2017
5. Magister Ilmu Biomedik FK UNISSULA : 2024 – Sekarang

C. . Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : Fitriani Pambudi, S.T
2. Nama Anak : Muhammad Kiandra Athazaky
Sarah Shalona Dhyasvara



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 MMP-9 dan IL-6 Pada Model *Acne-Like* (Studi Eksperimental pada Mencit Jantan yang dipapar *Cutibacterium Acnes*)" 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:

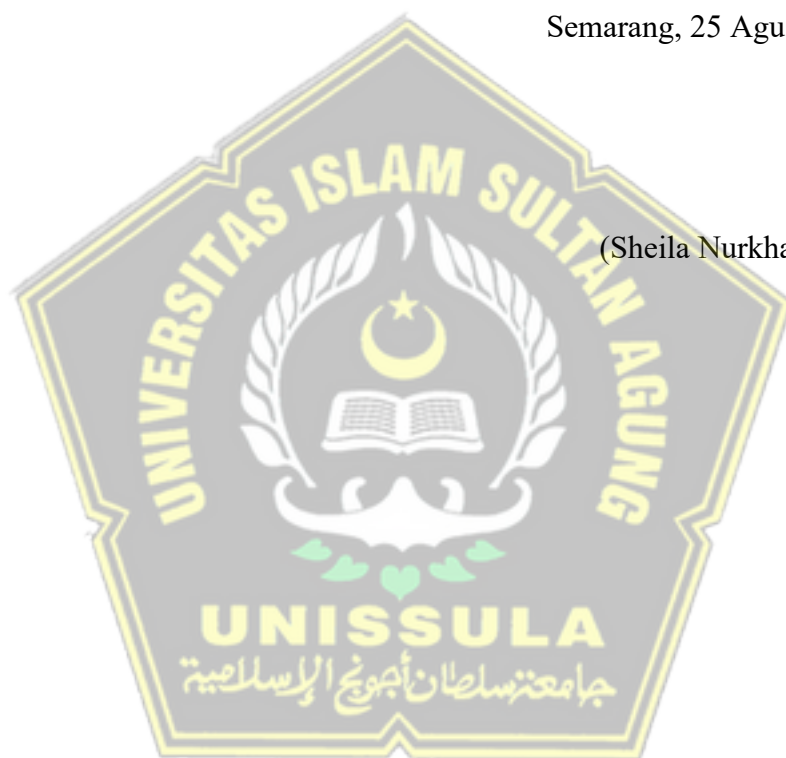
1. Prof. Dr. H. Gunarto, S.H., M.Hum, selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang beserta para Wakil Rektor yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan Magister Biomedik.
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.F, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang, sekaligus Dosen Penguji I yang telah memberikan pengarahan dan dukungan dalam penyusunan 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 Fasitasari, 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. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp.D.V.E., Subsp.D.K.E, FINSADV, FAADV, selaku Dosen Penguji II yang telah memberikan pengarahan dan masukan untuk perbaikan tesis ini. Para penguji proposal tesis, atas kritik dan sarannya untuk perbaikan tesis ini.
7. Dr. dr. Chodijah, M.Kes., selaku Dosen Penguji III yang telah memberikan masukan dan dukungan untuk perbaikan tesis ini.
8. Para dosen dan staf pengajar Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah memberikan ilmu dan wawasan selama masa studi, serta banyak membantu selama penyusunan proposal tesis ini.
9. Keluarga tercinta, atas doa, dukungan, dan semangat yang selalu menyertai.
10. Rekan-rekan seperjuangan, atas kerja sama, motivasi, dan kebersamaan selama proses penyusunan proposal tesis ini.
11. Kepada seluruh pihak yang telah memberikan dukungan, bantuan, serta doa dalam proses penyusunan karya tulis ini. Mohon maaf karena tidak dapat menyebutkan satu per satu, namun setiap kontribusi yang diberikan sangat berarti dan menjadi bagian penting dalam terselesaikannya karya ini.

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

(Sheila Nurkhalesa)



ABSTRAK

Latar Belakang: Jerawat merupakan penyakit inflamasi kronis pada folikel rambut akibat infeksi *Cutibacterium acnes* yang memicu peningkatan mediator inflamasi seperti MMP-9 dan IL-6. Propolis diketahui memiliki sifat antiinflamasi dan antibakteri sehingga berpotensi menurunkan kadar mediator tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian serum ekstrak propolis terhadap kadar MMP-9 dan IL-6 pada mencit jantan model jerawat inflamatorik.

Metode: Penelitian eksperimental dengan desain *post-test only control group* ini menggunakan 25 ekor mencit jantan yang dibagi menjadi lima kelompok: K1 (kelompok sehat), K2 (induksi *C. Acnes* + basis serum), K3 (induksi *C. acnes* + klindamisin topikal), K4 (induksi *C. acnes* + serum ekstrak propolis 1%), dan K5 (induksi *C. acnes* + serum ekstrak propolis 2%). Perlakuan diberikan topikal selama 7 hari. Kadar MMP-9 dan IL-6 diukur menggunakan metode ELISA.

Hasil: Analisis deskriptif menunjukkan kadar rata-rata MMP-9 terendah pada K5 ($0,94 \pm 0,055$) dan tertinggi pada K3 ($2,34 \pm 0,288$), sedangkan kadar rata-rata IL-6 terendah pada K5 ($8,96 \pm 1,069$) dan tertinggi pada K1 ($12,42 \pm 0,887$). Uji Kruskal-Wallis menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok untuk MMP-9 ($p=0,003$) dan IL-6 ($p=0,001$). Uji lanjut Mann-Whitney menunjukkan kelompok perlakuan dengan propolis 1% dan 2% menurunkan kadar MMP-9 dan IL-6 secara signifikan dibanding kontrol, dengan penurunan lebih besar pada konsentrasi 2%.

Kesimpulan: Serum ekstrak propolis dapat berpengaruh terhadap penurunan kadar MMP-9 dan IL-6 pada model jerawat yang dipapar *C.acnes*, menunjukkan potensi propolis sebagai alternatif terapi antiinflamasi untuk mengatasi jerawat.

Kata kunci: *Cutibacterium acnes*, MMP-9, IL-6, propolis, ELISA.



ABSTRACT

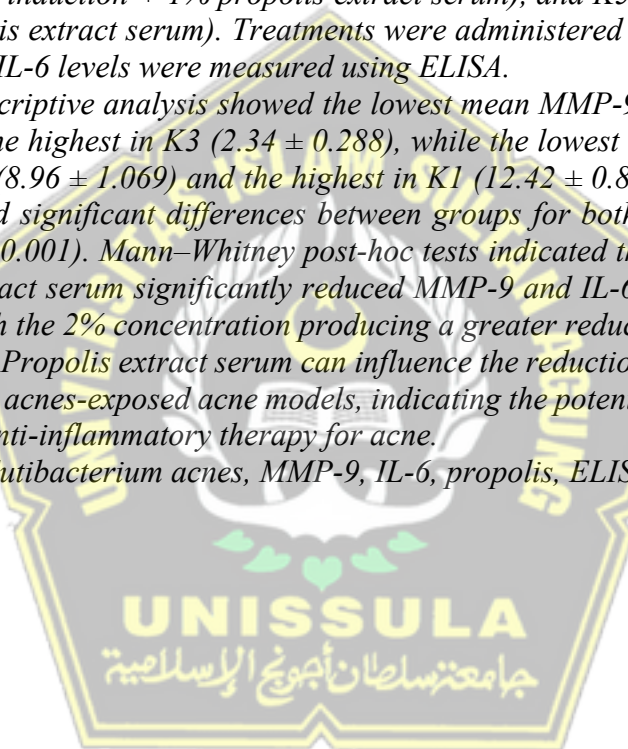
Background: Acne is a chronic inflammatory disease of the hair follicle caused by *Cutibacterium acnes* infection, which triggers an increase in inflammatory mediators such as MMP-9 and IL-6. Propolis is known for its anti-inflammatory and antibacterial properties, making it a potential agent to reduce these mediators. This study aimed to analyze the effect of propolis extract serum on MMP-9 and IL-6 levels in male rats with an acne-like inflammatory model.

Methods: This experimental study used a post-test only control group design involving 25 male rats randomly divided into five groups: K1 (healthy control), K2 (*C. acnes* induction + serum base), K3 (*C. acnes* induction + clindamycin topical), K4 (*C. acnes* induction + 1% propolis extract serum), and K5 (*C. acnes* induction + 2% propolis extract serum). Treatments were administered topically for 7 days. MMP-9 and IL-6 levels were measured using ELISA.

Results: Descriptive analysis showed the lowest mean MMP-9 level in K5 (0.94 ± 0.055) and the highest in K3 (2.34 ± 0.288), while the lowest mean IL-6 level was found in K5 (8.96 ± 1.069) and the highest in K1 (12.42 ± 0.887). Kruskal–Wallis tests revealed significant differences between groups for both MMP-9 ($p=0.003$) and IL-6 ($p=0.001$). Mann–Whitney post-hoc tests indicated that both 1% and 2% propolis extract serum significantly reduced MMP-9 and IL-6 levels compared to controls, with the 2% concentration producing a greater reduction.

Conclusion: Propolis extract serum can influence the reduction of MMP-9 and IL-6 levels in *C. acnes*-exposed acne models, indicating the potential of propolis as an alternative anti-inflammatory therapy for acne.

Keywords: *Cutibacterium acnes*, MMP-9, IL-6, propolis, ELISA.



DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	viii
<i>ABSTRACT</i>	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Umum.....	5
1.3.2 Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
1.5 Originalitas Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9)	10
2.1.1 Definisi MMP-9	10
2.1.2 Peran MMP-9 dalam Acne Vulgaris	12
2.2 Interleukin 6 (IL-6)	13
2.3 Acne Vulgaris.....	14
2.3.1 Definisi Acne Vulgaris	14
2.3.2 Etiologi Acne Vulgaris	15
2.3.3 Klasifikasi Acne Vulgaris.....	16
2.3.4 Patogenesis Acne Vulgaris	18

2.3.5	Penanganan Acne Vulgaris.....	20
2.4	Faktor-Faktor Eksternal yang Memengaruhi MMP-9 dan IL-6.....	27
2.5	Metode Pengukuran IL-6 dan MMP-9.....	32
2.6	Propolis dan Komponen Aktifnya.....	35
2.6.1	Sifat Fisik dan Komposisi Propolis	35
2.6.2	Manfaat Propolis	37
2.6.3	Aktivitas Antibakteri Propolis	39
2.6.4	Propolis dalam Peradangan	42
2.6.5	Serum Ekstrak Propolis	45
BAB III	KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS	47
3.1	Kerangka Teori.....	47
3.2	Kerangka Konsep	51
3.3	Hipotesis.....	51
BAB IV	METODE PENELITIAN	52
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian	52
4.2	Populasi dan Sampel Penelitian	53
4.2.1	Populasi Penelitian	53
4.2.2	Sampel Penelitian	55
4.2.3	Cara Pengambilan Sampel Penelitian.....	56
4.3	Variabel dan Definisi Operasional	56
4.3.1	Variabel Terikat (Dependen).....	56
4.3.2	Variabel Bebas (Independen).....	57
4.4	Bahan dan Alat Penelitian.....	58
4.4.1	Bahan.....	58
4.4.2	Alat.....	58
4.4	Prosedur Penelitian.....	59
4.4.1	Ethical Clearance	59
4.4.2	Perolehan Serum Ekstrak Propolis	59
4.4.3	Tatacara Pembuatan Esktrak	60
4.4.4	Cara Pembuatan Serum	60
4.4.5	Persiapan Hewan Uji	61
4.4.6	Induksi Acne Vulgaris	61
4.4.7	Perlakuan dengan Serum Propolis.....	62
4.4.8	Pengambilan Sampel	62

4.4.9 Analisis Kadar MMP-9 dan IL-6 dengan Metode ELISA.....	64
4.6.8 Pengolahan Data Awal	66
4.6.9 Pengujian Statistik.....	66
4.5 Tempat Penelitian.....	67
4.6 Alur Penelitian	67
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	69
5.1 Hasil Penelitian	69
5.1.1 Validasi Model Hewan <i>Acne-Like</i>	70
5.1.2 Hasil Analisis Kadar MMP-9	73
5.1.3 Hasil Analisis Kadar IL-6.....	75
5.2 Pembahasan.....	78
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	85
6.1 Kesimpulan	85
6.2 Saran.....	85
DAFTAR PUSTAKA	87
LAMPIRAN.....	100



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Jalur inflamasi yang disebabkan oleh <i>C. acnes</i>	19
Gambar 2. 2 Algoritma penanganan acne	21
Gambar 2.3 Komposisi Propolis	36
Gambar 2.4 Manfaat Propolis	38
Gambar 2.5 Mekanisme aktivitas propolis terhadap bakteri.....	39
Gambar 2.6 Mekanisme kerja propolis dalam memodulasi peradangan	43
Gambar 3.1 Kerangka Teori.....	50
Gambar 3.2 Kerangka Konsep	51
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian	52
Gambar 4.2 Alur Penelitian.....	68
Gambar 5.1 Validasi model acne-like pada kulit mencit.....	72
Gambar 5.2 Grafik Rerata Kadar MMP-9.....	75
Gambar 5.3 Grafik Rerata Kadar IL-6	77

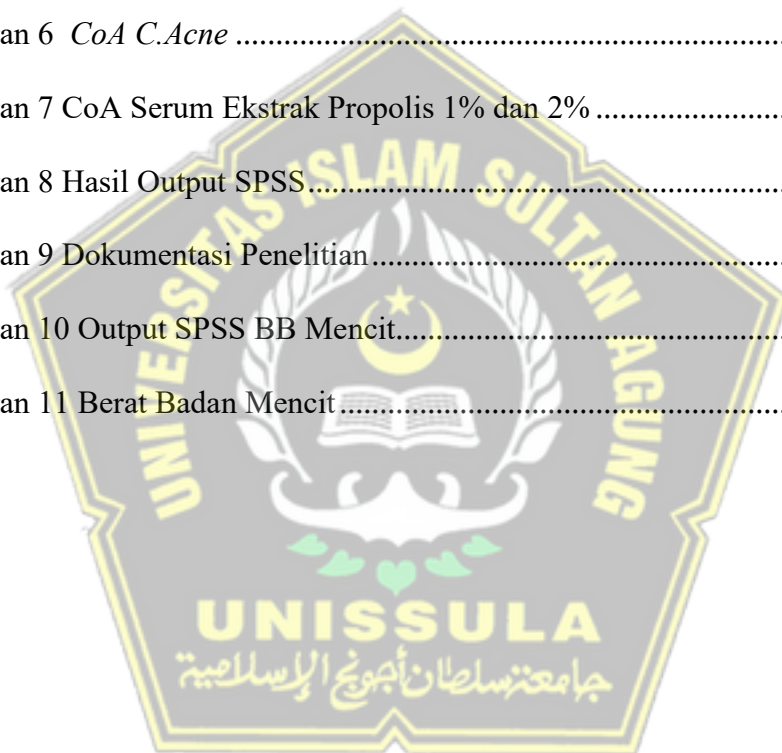
DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.....	6
Tabel 2.1 Klasifikasi derajat acne menurut grading Lehmann	17
Tabel 2.2 Klasifikasi derajat acne menurut grading Lehmann	17
Tabel 2.3 Algoritma Tatalaksana Akne Vulgaris Rekomendasi Pokja PT AV-INA ³³	22
Tabel 5.1 Hasil Analisis Kadar MMP-9.....	73
Tabel 5.2 Uji Mann-Whitney antar kelompok terhadap kadar MMP-9.....	74
Tabel 5.3 Hasil Analisis Kadar IL-6	76
Tabel 5.4 Uji Mann-Whitney antar kelompok terhadap kadar IL-6	77

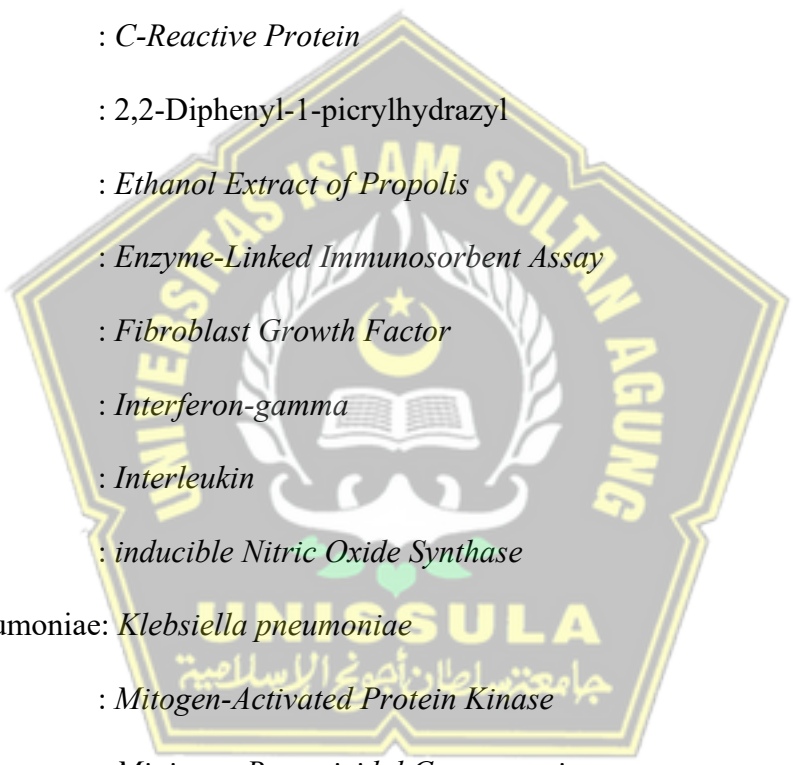


DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Izin Penelitian	100
Lampiran 2 Ethical Clearance	101
Lampiran 3 Hasil Pengukuran Kadar dengan ELISA	102
Lampiran 4 <i>MDS Ekstrak Propolis</i>	103
Lampiran 5 Spesifikasi Ekstrak Propolis	104
Lampiran 6 <i>CoA C.Acne</i>	105
Lampiran 7 CoA Serum Ekstrak Propolis 1% dan 2%	106
Lampiran 8 Hasil Output SPSS	107
Lampiran 9 Dokumentasi Penelitian	130
Lampiran 10 Output SPSS BB Mencit	132
Lampiran 11 Berat Badan Mencit	134



DAFTAR SINGKATAN



ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
AV	: <i>Acne Vulgaris</i>
C.Acnes	: <i>Cutibacterium Acnes</i>
CMCE	: <i>Continuous Micro-Column Extraction</i>
C-RP	: <i>C-Reactive Protein</i>
DPPH	: <i>2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
EEP	: <i>Ethanol Extract of Propolis</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
IFN- γ	: <i>Interferon-gamma</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
iNOS	: <i>inducible Nitric Oxide Synthase</i>
K. pneumoniae	: <i>Klebsiella pneumoniae</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MBC	: <i>Minimum Bactericidal Concentration</i>
MIC	: <i>Minimum Inhibitory Concentration</i>
MMP-9	: <i>Matrix Metalloproteinase-9</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer Of Activated B Cells</i>
NLRP	: <i>NOD-like Receptor Family, Pyrin Domain Containing</i>
NMR	: <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>

ORAC : *Oxygen Radical Absorbance Capacity*

PDGF : *Platelet-Derived Growth Factor*

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

ROS : *Reactive Oxygen Species*

RNA : *Ribonucleic Acid*

SPSS : *Statistical Package for the Social Sciences*

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

TGF : *Transforming Growth Factor*

TLR : *Toll-Like Receptor*

TNF- α : *Tumor Necrosis Factor-alpha*

UV : *Ultra Violet*



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 yang berlebih, penumpukan sel kulit mati, dan pertumbuhan bakteri *Cutibacterium acnes* (*C. Acnes*).¹ Acne vulgaris dapat diobati dengan berbagai macam obat, termasuk benzoil peroksida topikal, retinoid, antibiotik, dan terapi hormonal seperti spironolakton, glukokortikoid, dan kontrasepsi oral. Selama bertahun-tahun, kombinasi pengobatan topikal dan antibiotik oral telah menjadi andalan pengobatan jerawat untuk jerawat vulgaris sedang hingga berat. Antibiotik topikal utama yang digunakan untuk jerawat adalah klindamisin dan eritromisin. Penggunaan antibiotik jangka panjang saat ini telah dikaitkan dengan munculnya strain yang resistan. Pengobatan jerawat yang paling umum digunakan adalah benzoil peroksida topikal yang memiliki efek samping seperti iritasi kulit, kekeringan, dan pengelupasan. Propolis adalah produk alami yang dapat menjadi pilihan utama dengan kemanjuran yang sama atau lebih besar, dan menjadi pilihan terbaik dalam maraknya fenomena resistensi terapeutik. Propolis berpotensi digunakan untuk mengobati jerawat vulgaris karena sifat antimikroba, antiinflamasi, dan antioksidan.²

Acne vulgaris yang tidak ditangani dengan baik dapat mengakibatkan dampak serius baik secara fisik maupun psikologis. Secara fisik, kondisi ini dapat meninggalkan bekas luka permanen seperti bopeng dan hiperpigmentasi, yang sulit

untuk dihilangkan dan mengganggu estetika kulit. Infeksi sekunder dapat terjadi jika jerawat dipencet atau tidak dirawat dengan benar, memperburuk peradangan dan meningkatkan risiko komplikasi serius seperti folikulitis Gram-negatif, yang berpotensi merusak penampilan dan menurunkan kualitas hidup penderitanya. Penelitian menunjukkan bahwa individu dengan acne vulgaris sering mengalami penurunan rasa percaya diri, kecemasan, dan depresi, terutama di kalangan remaja dan dewasa muda, yang sangat memperhatikan penampilan mereka. Di Indonesia, sekitar 29,2% mahasiswa mengalami gejala ansietas ringan hingga berat akibat kondisi ini, sementara di luar negeri, studi menunjukkan bahwa acne vulgaris dapat menyebabkan isolasi sosial dan bahkan ide bunuh diri pada penderitanya. Dengan demikian, penting untuk melakukan penanganan yang tepat dan segera untuk mencegah komplikasi jangka panjang yang dapat memengaruhi kesehatan mental dan fisik individu secara signifikan.³⁻⁶

Propolis merupakan zat lengket yang terbentuk dari kombinasi enzim β -glikosidase air liur lebah, eksudat kuncup tanaman, dan lilin lebah. Biasanya, propolis terdiri dari 50% zat resin, 30% lilin, 10% minyak esensial, 5% serbuk sari, dan 5% konstituen minor seperti kotoran, asam amino, tanah, dan lebah yang sudah mati.² Propolis berpotensi digunakan untuk mengobati jerawat vulgaris karena sifat antimikroba, antiinflamasi, dan antioksidannya yang terkenal. Sifat antimikroba ekstrak etanol propolis telah diteliti secara luas, dan telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap berbagai bakteri Gram positif termasuk *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, dan *Staphylococcus aureus* serta bakteri Gram negatif seperti *Pseudomonas sp.*, *Escherichia coli*, dan *Yersinia enterocolitica*.

Dilaporkan juga memiliki efek antimikroba terhadap *C. acnes*.⁷ Serum propolis memiliki manfaat sebagai antiinflamasi dengan menghambat jalur inflamasi (NF- κ B dan MAPK), menurunkan ekspresi sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 dan TNF α . Serum ekstrak propolis sebagai antibakteri alami, yaitu efektif terhadap *C. acnes* melalui senyawa bioaktif seperti flavonoid dan asam fenolat, meskipun mekanisme langsungnya kurang spesifik dibanding antibiotik. Propolis juga memiliki peran sebagai antioksidan, yaitu mengurangi stres oksidatif yang memperparah acne. Serum ekstrak propolis juga berperan sebagai imunomodulasi, yaitu dapat meningkatkan sitokin anti-inflamasi dalam membantu memperbaiki respons imun kulit.⁸ Propolis dapat dijadikan pilihan sebagai terapi untuk acne vulgaris karena prevalensi *C. acnes* resisten antibiotik bervariasi di berbagai belahan dunia. Angka prevalensi yang tinggi terdapat di negara-negara Eropa, dengan resistensi eritromisin/kлиндamisin berkisar dari 45% hingga 91% dan resistensi tetrasiklin dari 5% menjadi 26,4%.⁹

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa propolis memiliki berbagai manfaat terapeutik, terutama dalam hal anti-inflamasi, antioksidan, dan antibakteri. Sebagai contoh, propolis yang diekstraksi dengan CMCE terbukti dapat menurunkan kadar TNF- α dan C-Reactive Protein (CRP) pada mencit yang mengalami kerusakan hati akibat CCl₄. Ekstrak propolis juga memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, serta mempercepat proses penyembuhan luka melalui aplikasi topikal. Propolis yang berasal dari berbagai jenis lebah, seperti *Tetragonula sapiens* dan *Apis mellifera*, menunjukkan sifat anti-inflamasi dan antimikroba yang

menjanjikan, yang menjadikannya kandidat potensial untuk terapi alami pada kondisi peradangan dan infeksi. Berbagai studi juga menekankan efektivitas propolis dalam mengatasi masalah kulit seperti jerawat dan luka bakar, yang didukung oleh aktivitas antibakteri dan antioksidan yang kuat.¹⁰⁻¹¹

Penelitian ini menggunakan formulasi serum untuk penggunaan propolis karena Serum adalah sediaan dengan zat aktif yang mempunyai konsentrasi tinggi dan viskositas rendah, sehingga mudah diabsorpsi di permukaan kulit. Berbagai studi telah menunjukkan manfaat dari Propolis terhadap berbagai bioaktivitasnya (termasuk antioksidan, antibakteri, antijamur, dan antiinflamasi), data yang mengevaluasi efektivitasnya dalam model *in vivo* masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengisi kesenjangan tersebut dengan mengevaluasi efektivitas serum ekstrak propolis dalam menurunkan kadar Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) dan Interleukin 6 (IL-6) yang di uji secara *In Vivo* pada Mencit sebagai model Acne Vulgaris. Studi ini diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah yang kuat untuk pengembangan produk perawatan kulit berbasis ekstrak propolis, serta memperluas wawasan tentang mekanisme yang mendasari efeknya pada Acne Vulgaris.¹²

1.2 Rumusan Masalah

Apakah serum ekstrak propolis berpengaruh terhadap kadar MMP-9 dan IL-6 pada mencit jantan sebagai model *acne like* yang dipapar *Cutibacterium acnes*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Umum

Mengetahui pengaruh serum ekstrak propolis terhadap kadar MMP-9 dan IL-6 pada jaringan kulit mencit jantan sebagai model *acne-like* yang dipapar bakteri *Cutibacterium acnes*.

1.3.2 Khusus

- 1) Membuktikan pengaruh pemberian serum ekstrak propolis terhadap kadar IL-6
- 2) Membuktikan pengaruh pemberian serum ekstrak propolis terhadap kadar MMP-9
- 3) Menganalisis perbedaan pengaruh pemberian serum ekstrak propolis dosis 1% dan 2%

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Memberikan informasi pengaruh pemberian serum ekstrak propolis terhadap kadar MMP-9 dan IL-6 pada mencit jantan sebagai model *acne-like* yang dipapar bakteri *Cutibacterium acnes*.

1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan informasi tentang potensi antiacne, antiinflamasi, dan antioksidan dari serum ekstrak propolis dalam pengobatan acne.

1.5 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

No	Peneliti	Judul Penelitian	Metode	Hasil Penelitian
1.	Naim, N et al (2022) ¹³	<i>Antimicrobial Activity of Malaysian Apis mellifera Propolis against Propionibacterium acnes</i>	<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).
2.	Wulandari ¹ , Dyah Tantri et al (2023) ⁸	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Propolis dari Lebah Kelulut (<i>Heterotrigona itama</i>) terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>in vitro</i>	Menemukan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak propolis yang digunakan, maka zona hambat yang dihasilkan juga semakin besar. ekstrak metanol propolis lebah <i>Heterotrigona itama</i> dapat menghambat pertumbuhan bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada konsentrasi 50%:12,25 mm, serta dapat menghambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> pada konsentrasi 50%:12,05 mm.
3.	Mozzarelli et al (2018) ¹⁴	<i>Treatment of acne with a combination of propolis, tea tree oil, and Aloe vera compared to erythromycin cream: two double-blind investigations</i>	<i>In vivo</i>	Krim berbahan alami (PTAC) lebih efektif dalam mengurangi keparahan jerawat dan bekas kemerahan dibandingkan eritromisin. Indeks keparahan acne kelompok PTAC telah berkurang secara signifikan sebesar 31,6% dan 66,7% dan nilai TLC rata-rata pada kelompok PTAC menurun

				secara signifikan sebesar 33,56% dan 63,7%, setelah 15 dan 30 hari pengobatan.
4.	Rouvier et al (2024) ¹⁵	<i>Identification of 2,4-Di-tert-Butylphenol as an Antimicrobial Agent Against Cutibacterium acnes Bacteria from Rwandan Propolis</i>	<i>In vivo dan In vitro</i>	2,4-Di-tert-butylphenol (2,4-DTBP) menunjukkan aktivitas antimikroba kuat terhadap <i>Cutibacterium acnes</i> , termasuk strain resisten eritromisin, dengan nilai MIC sebesar 16 µg/mL. Salep propolis 1% yang mengandung OFAP18 (mengandung 2,4-DTBP) menurunkan inflamasi kulit dan jumlah bakteri <i>C. acnes</i> dibandingkan kontrol (petroleum jelly).
5.	Rimon et al (2023) ¹⁶	<i>Topical phage therapy in a mouse model of Cutibacterium acnes-induced acne-like lesions</i>	<i>In vivo</i>	Pemberian fag secara topikal menghasilkan penurunan bermakna jumlah bakteri (log CFU 5.5 → 3.7), infiltrasi sel radang (skor 4.3 → 2.0), serta ekspresi sitokin inflamasi MIP-2 dan IL-1β. Selain itu, tidak ditemukan tanda toksisitas jaringan
6.	Jang et al (2015) ¹⁷	<i>HR-1 Mice: A New Inflammatory Acne Mouse Model</i>	<i>In vivo</i>	Model tikus HR-1 yang diinjeksi intradermal dengan <i>C. acnes</i> (10 ⁹ CFU) menghasilkan lesi jerawat inflamasi dalam 3 hari, dengan puncak peradangan pada hari ke-5. Ketebalan kulit meningkat signifikan (0.38 ± 0.03 mm vs 0.16 ± 0.04 mm; p < 0.01) dan disertai infiltrasi neutrofil dan pembentukan pustula, menjadikan model ini stabil dan representatif untuk studi jerawat inflamasi.
7.	Zhou et al (2024) ¹⁸	<i>Intradermal injection of Cutibacterium acnes and staphylococcus:</i>	<i>In vivo</i>	Penyuntikan intradermal <i>C. acnes</i> dan <i>S. epidermidis</i> (1 × 10 ⁹ CFU) pada tikus BALB/c dan C57BL/6 menghasilkan lesi pustular inflamasi dalam

		<i>A pustular acne-like murine model</i>	1 hari, dengan puncak inflamasi pada hari ke-2. Histologi menunjukkan mikroabses dermal dan infiltrasi neutrofil intens, terutama pada tikus BALB/c. Model ini secara cepat meniru karakteristik jerawat pustular manusia.
8.	Jatav et al (2023) ¹⁹	<i>Evaluation of in vivo Anti-acne Activity of Flower Extract of Withania coagulans</i>	<i>In vivo</i> Pemberian oral ekstrak bunga <i>Withania coagulans</i> (200 mg/kg BB) selama 10 hari pada tikus Wistar yang diinduksi jerawat dengan <i>Propionibacterium acnes</i> menurunkan ketebalan telinga secara signifikan dari 1.28 ± 0.10 mm menjadi 0.19 ± 0.05 mm, menunjukkan aktivitas antiinflamasi dan anti-acne yang sebanding dengan clindamycin.
9.	Fitriani et al (2022) ²⁰	Perbandingan Efektivitas Produk Topikal Anti Jerawat Terhadap Tikus Putih Jantan (<i>Rattus novergicus</i>) Secara <i>In Vivo</i>	<i>In vivo</i> Vitacid® gel (tretinoin 0,05%) menurunkan skor jerawat tikus dari 4–5 menjadi 1.20 ± 0.83 pada hari ke-21, lebih efektif dibanding Vitacid® krim (2.60 ± 0.55) dan kontrol (4.20 ± 0.45), dengan perbedaan signifikan secara statistik
10.	Hamma et al, 2021 ²¹	Matrix metalloproteinase-9 in the blood of acne patients: The possible use of matrix metalloproteinase-9 as a biomarker of acne severity	<i>Case-control</i> Kadar MMP-9 dalam darah meningkat secara signifikan pada pasien acne vulgaris dan berkorelasi dengan tingkat keparahan penyakit, sehingga berpotensi digunakan sebagai biomarker acne severity

Berbagai penelitian sebelumnya telah mengevaluasi efek antimikroba dan antiinflamasi dari propolis maupun agen lain terhadap *Cutibacterium acnes*, dengan

beragam pendekatan mulai dari uji *in vitro* hingga *in vivo*. Namun, sebagian besar studi tersebut hanya menilai parameter makroskopis seperti zona hambat, jumlah koloni bakteri, atau ketebalan kulit, tanpa secara spesifik mengukur biomarker molekuler utama yang terlibat dalam patogenesis jerawat seperti Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) dan Interleukin-6 (IL-6). Selain itu, bentuk sediaan propolis dalam studi-studi terdahulu umumnya berupa salep, krim, atau larutan etanol, dan belum banyak yang menggunakan sediaan serum topikal yang lebih praktis dan aplikatif dalam konteks dermatologi. Penelitian ini dirancang menggunakan desain eksperimental *in vivo* berbasis model mencit jantan (*Mus musculus*) yang diinduksi jerawat, dengan pendekatan *Post-Test Only Control Group Design*. Serum ekstrak propolis diaplikasikan secara topikal dalam dua konsentrasi (1% dan 2%) dan dibandingkan dengan kelompok sehat, kontrol negatif, serta kontrol positif. Dengan mengevaluasi kadar IL-6 dan MMP-9 sebagai indikator inflamasi lokal dan sistemik, penelitian ini diharapkan dapat mengisi kesenjangan literatur dan memberikan kontribusi ilmiah baru dalam pemanfaatan propolis sebagai terapi topikal berbasis bukti untuk jerawat inflamasi tingkat sedang.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9)

2.1.1 Definisi MMP-9

Metalo proteinase matriks (MMP) adalah enzim yang mendegradasi protein dan memerlukan keberadaan atom logam aktif. Ada lebih dari 20 jenis MMP yang bekerja mendorong migrasi sel melalui degradasi proteolitik dari dasar ekstraseluler. MMP akan diatur naik pada daerah yang sedang meradang. MMP memiliki tiga daerah konservasi, yaitu pro-MMP, katalisis, dan hemopeksin. Melalui domain ini, MMP akan membelah matriks dan penghalang sel-ke-sel. Sehingga MMP dapat membelah seluruh matriks ekstraseluler (ECM).²²

MMP merupakan endopeptidase dependen seng (Zn^{2+}) yang terdapat dalam sel dan terikat pada membran. MMP dapat menyebabkan kerusakan protein matriks ekstraseluler (ECM) seperti kolagen, laminin, elastin, fibronectin, dan membantu dalam remodeling matriks ekstraseluler dalam berbagai proses fisiologis dan patologis. MMP juga dapat merusak molekul non-ECM yang merupakan molekul bioaktif. Nama lain dari MMP adalah matrixin yang termasuk dalam superfamili metzincin. Mereka akan bekerja tergantung pada ion logam seperti seng (Zn^{2+}) dan kalsium (Ca^{2+}). Mereka aktif pada pH netral. Ekspresi MMP dapat ditingkatkan oleh beberapa faktor seperti sitokin (interleukin-1 dan -6), faktor pertumbuhan (transforming growth factor (TGF), tumor necrosis factor α (TNF α), platelet-derived growth factor (PDGF), basic fibroblast growth factor (bFGF) dan

beberapa hormon. MMP memiliki peran penting dalam berbagai proses fisiologis termasuk perkembangan, penyembuhan luka, remodeling jaringan, morfogenesis organ, dan angiogenesis.²³⁻²⁵

MMP-9 merupakan salah satu MMP paling kompleks yang termasuk dalam famili gelatinase. MMP-9 (92 kDa tipe IV kolagenase; gelatinase B) ditemukan oleh Wilhelm pada tahun 1989 dan merupakan MMP terbesar. MMP-9 mengikat substratnya, yaitu kolagen tipe IV, gelatin, dan laminin. MMP-9 disekresikan oleh neutrofil dan makrofag, dan mengatur inflamasi pada jaringan dan penyakit. MMP-9 dapat menghambat atau menstimulasi proses degradasi ECM. MMP-9 menyebabkan degradasi gelatin dan kolagen tipe IV, V, XI dan XVI selama remodeling jaringan yang penting untuk invasi dan metastasis tumor. MMP-9 terletak di hipokampus, serebelum dan korteks serebral. MMP-9 disekresikan sebagai zimogen atau sebagai bentuk tidak aktif dari sel endotel, leukosit, fibroblas, neutrofil dan makrofag. Pada saat diferensiasi granulosit, sintesis MMP-9 umumnya terjadi di sumsum tulang.^{23,26}

Ekspresi MMP-2 dan MMP-9 meningkat pada jaringan yang meradang selama kondisi peradangan kronis, seperti obesitas, artritis, aterosklerosis, dan penyakit periodontal. Sel-sel imun yang terinfiltrasi ini mengekspresikan MMP-9 secara berlebihan, sehingga menyebabkan degradasi jaringan ikat dan memicu patogenesis. MMP-9 juga menginduksi degradasi membran dasar dan komponen ECM, yang memfasilitasi migrasi trans-endothel monosit/makrofag.²⁵

Ekspresi MMP-9 dapat ditingkatkan oleh lipopolisakarida dan sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, dan TNF α . Khususnya, peningkatan konsentrasi sirkulasi TNF α dan MMP-9 telah ditemukan pada gangguan inflamasi.²⁵

2.1.2 Peran MMP-9 dalam Acne Vulgaris

Beberapa jenis MMP seperti MMP-1, MMP-13, dan MMP-9 ditemukan pada sebum pasien acne vulgaris dan dilaporkan dalam beberapa penelitian mengalami peningkatan regulasi pada lesi kulit pada beberapa pasien acne vulgaris.²⁷ Gen termasuk ALB, CAT, AKT1, MMP9 berhubungan dengan sistem oksidasi kulit, yang jika terganggu akan menyebabkan ketidakseimbangan sebum.²⁸

Trigliserida merupakan konstituen utama pada sebum. Keratinosit, neutrofil, dan mikroorganisme seperti *C. acnes* adalah konstituen lainnya. *C. acnes* dapat merangsang keratinosit untuk dapat menghasilkan sitokin inflamasi mikro seperti interleukin-1 α dan TNF- α . Keratinosit dan beberapa sel inflamasi seperti sel mast, monosit, dan makrofag merupakan sumber penting TNF- α di kulit. Fibroblas kulit manusia dianggap sebagai sumber TNF- α dalam menanggapi rangsangan eksternal. TNF- α memainkan peran penting dalam memodulasi aktivitas MMPs di dermis.²⁷

Berbagai tingkat ekspresi MMP-1 dan MMP-2 dapat berperan dalam pembentukan berbagai jenis lesi acne. Peningkatan kadar MMP-9 berkorelasi dengan tingkat keparahan acne dan ukuran lesi inflamasi, menjadikannya biomarker potensial untuk mengidentifikasi terapi terbaik untuk acne vulgaris.²⁹ Hal tersebut dapat disebabkan karena Ekspresi berlebihan MMP-9 mengakibatkan sel bermigrasi ke tempat inflamasi, mempertahankan kelangsungan hidup sel target,

bersama dengan mendorong pembaruan makrofag, sehingga berkontribusi terhadap perkembangan dan progresi penyakit inflamasi kronis.²⁵

2.2 Interleukin 6 (IL-6)

Interleukin 6 (IL-6) merupakan sitokin pleiotropik yang diproduksi oleh berbagai jenis sel, termasuk sel-sel imun, fibroblas, dan sel endotel. IL-6 memiliki peran penting dalam respons imun dan inflamasi, juga berkontribusi pada proses penyembuhan jaringan. IL-6 diproduksi secara cepat dan transient sebagai respons terhadap infeksi dan kerusakan jaringan, juga memiliki fungsi yang luas dalam mengatur berbagai proses biologis, termasuk proliferasi sel, diferensiasi, dan apoptosis. IL-6 terlibat dalam pengaturan metabolisme dan homeostasis energi, sehingga menjadi komponen kunci dalam patogenesis berbagai penyakit, termasuk penyakit autoimun dan kanker.³⁰

IL-6 memiliki peran utama dalam proses peradangan dengan memfasilitasi transisi dari respons inflamasi akut ke kronis. IL-6 berfungsi sebagai mediator utama yang dapat mengaktifkan sel-sel imun, seperti limfosit T dan B, serta memicu produksi sitokin pro-inflamasi lainnya. Peningkatan kadar IL-6 dalam sirkulasi sering dikaitkan dengan kondisi inflamasi kronis. IL-6 juga berkontribusi pada pengembangan sindrom metabolik dan penyakit kardiovaskular, di mana inflamasi kronis berperan sebagai faktor risiko utama.³⁰

Dalam acne vulgaris, IL-6 diproduksi oleh berbagai sel, termasuk sel imun dan keratinosit, sebagai respons terhadap infeksi dan kerusakan jaringan. Peningkatan kadar IL-6 dalam serum pasien dengan acne vulgaris telah terbukti berkorelasi positif dengan keparahan penyakit. Penelitian menunjukkan bahwa

kadar IL-6 yang lebih tinggi ditemukan pada individu dengan acne vulgaris yang lebih parah. Hal ini menunjukkan bahwa IL-6 berkontribusi pada proses inflamasi yang terjadi di kulit. IL-6 tidak hanya berfungsi sebagai mediator inflamasi, tetapi juga mempengaruhi aktivitas kelenjar sebaceous, yang berperan dalam patogenesis acne.³⁰

IL-6 berfungsi sebagai mediator utama dalam proses inflamasi pada acne vulgaris. IL-6 ini tidak hanya memicu reaksi inflamasi, namun juga berperan dalam mengatur aktivitas sel-sel imun, seperti limfosit T dan B. IL-6 dapat meningkatkan produksi sitokin pro-inflamasi lainnya, yang dapat memperburuk kondisi inflamasi. IL-6 juga dapat mempengaruhi aktivitas kelenjar sebaceous, meningkatkan produksi sebum, dan menciptakan lingkungan yang memperburuk kondisi acne.³¹

Setelah pengobatan atau resolusi infeksi, kadar IL-6 biasanya akan menurun, yang menandakan bahwa peradangan telah berkurang. Proses penyembuhan ini juga melibatkan sitokin anti-inflamasi yang membantu mengurangi respon inflamasi dan membantu perbaikan jaringan. Sitokin seperti IL-10 dan transforming growth factor-beta (TGF- β) berperan dalam mengatur respons imun dan mendukung proses penyembuhan.³²

2.3 Acne Vulgaris

2.3.1 Definisi Acne Vulgaris

Acne vulgaris adalah kelainan peradangan kulit pada unit pilosebacea, yang berlangsung kronis. Acne vulgaris biasanya bermanifestasi dengan papula, pustula, atau nodul terutama di wajah, meskipun dapat juga memengaruhi lengan atas, badan, dan punggung. Patogenesis acne vulgaris melibatkan interaksi beberapa

faktor yang mengarah pada pembentukan lesi primer, yang dikenal sebagai "komedo".³³

Acne vulgaris telah memengaruhi sekitar 9% populasi di seluruh dunia (sekitar 85% individu berusia 12-24 tahun, dan sekitar 50% pasien berusia 20-29 tahun). Acne vulgaris dapat mengakibatkan jaringan parut fisik permanen, yang memiliki dampak negatif pada kualitas hidup dan citra diri, serta dikaitkan dengan peningkatan tingkat kecemasan, depresi, dan keinginan untuk bunuh diri.³⁴

2.3.2 Etiologi Acne Vulgaris

Acne vulgaris berkembang sebagai akibat dari hipersensitivitas kelenjar sebacea terhadap kadar androgen yang normal. Proses ini semakin diperburuk dengan keberadaan *C. acnes*, spesies bakteri, dan peradangan berikutnya.³⁵

Faktor-faktor yang diduga berkontribusi terhadap Acne meliputi:^{33,36}

- a. Penggunaan obat-obatan seperti litium, dan steroid.
- b. Paparan sinar matahari yang berlebihan.
- c. Penggunaan pakaian oklusif, seperti bantalan bahu, ikat kepala, dan bra berkawat.
- d. Kosmetik dengan bahan dasar minyak dan pijat wajah.
- e. 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.
- f. Faktor genetik secara signifikan memengaruhi proporsi asam lemak yang ditemukan dalam sebum, dengan estimasi heritabilitas yang berkisar antara 50% hingga 90%.

- g. Trauma mekanis berulang yang diakibatkan oleh gesekan pada kulit yang terkena sabun dan deterjen.
- h. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa peningkatan konsumsi susu dan pola makan dengan kadar glikemik tinggi dikaitkan dengan acne vulgaris. Hal ini dapat dikaitkan dengan kandungan faktor pertumbuhan mirip insulin (IGF) dan komponen hormonal alami yang tinggi dalam susu.
- i. Stres psikologis dikaitkan dengan peningkatan keparahan jerawat, mungkin dengan merangsang hormon stres.

2.3.3 Klasifikasi Acne Vulgaris

Klasifikasi acne vulgaris dapat dibedakan berdasarkan tingkat keparahan klinis dan jenis lesi. Berdasarkan keparahan klinis, acne vulgaris dibagi menjadi ringan, sedang, dan berat. Klasifikasi ini mempertimbangkan jumlah komedo, lesi inflamasi (papul, pustul), nodul, dan kista.^{37,38}

Berikut merupakan klasifikasi acne vulgaris menurut Lehmann:

- a. Ringan: <20 komedo, atau <15 lesi inflamasi, atau total lesi <30.
- b. Sedang: 20-100 komedo, atau 15-50 lesi inflamasi, atau total lesi 30-125.
- c. Berat: >5 kista, atau >100 komedo, atau >50 lesi inflamasi, atau total lesi >125.

Beberapa klasifikasi acne vulgaris derajat sedang diklasifikasikan berdasarkan jumlah komedo, lesi inflamasi (papul, pustul), dan kista. Berikut merupakan beberapa kriteria klasifikasi acne vulgaris derajat sedang berdasarkan sumber lain yang tersedia:

Menurut American Academy of Dermatology:³⁹

- a. Komedo: >25
- b. Pustul/Papul: 10-30
- c. Nodul: >10

Tabel 2.1 Klasifikasi derajat acne menurut grading Lehmann ⁴⁰

Skor	Kategori	Deskripsi
0	<i>Clear</i>	Tidak terdapat lesi akne vulgaris atau sangat sedikit lesi yang diamati.
1	<i>Almost clear</i>	Lesi akne vulgaris hampir tidak terlihat, dengan sedikit lesi yang terlihat tetapi sangat minim.
2	<i>Mild</i>	Terlihat lesi akne ringan, yaitu beberapa komedo, papula, atau pustula, namun jumlahnya terbatas.
3	<i>Moderate</i>	Terlihat lesi akne sedang, yaitu terdapat komedo, papula, pustula, dan beberapa nodul, dengan distribusi pada hampir separuh wajah.
4	<i>Severe</i>	Terlihat lesi akne berat dengan banyak lesi yang terdiri atas komedo, papula, pustula, nodul, dan kista, dengan distribusi luas pada wajah.

Tabel 2.2 Klasifikasi derajat acne menurut grading Lehmann ⁴¹

Tingkat Keparahan	Jumlah	Jumlah	Jumlah Lesi	Jumlah
Jerawat	Komedo	Pseudokista	Inflamasi	Lesi Total
Jerawat Ringan	<20	-	<15	<30
Jerawat Sedang	20–100	-	15–50	30–125

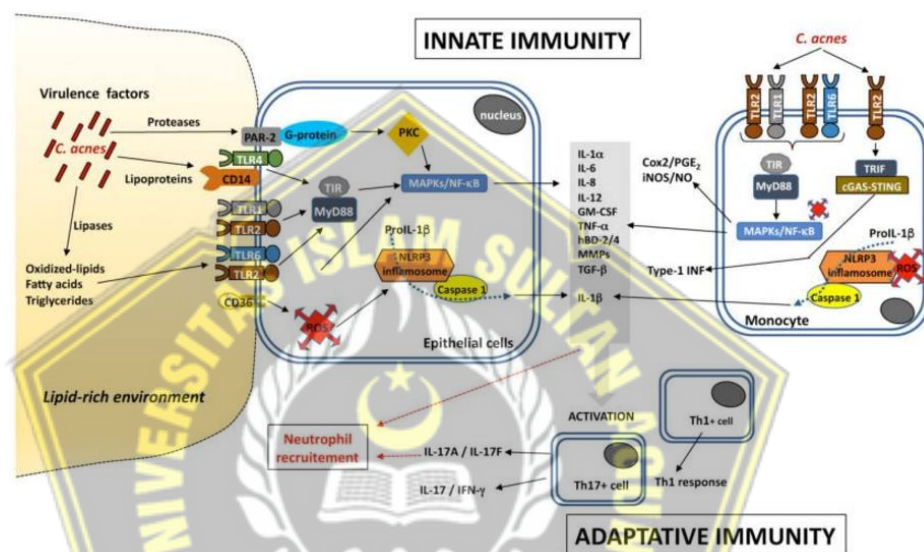
Jerawat Parah	>100	>5	>50	>125
----------------------	------	----	-----	------

2.3.4 Patogenesis Acne Vulgaris

Patogenesis acne vulgaris derajat sedang melibatkan interaksi kompleks dari beberapa faktor:⁴²⁻⁴⁴

1. Hiperproliferasi Folikel: Keratinosit mengalami peningkatan proliferasi di dalam folikel rambut, yang menyebabkan terjadinya hiperkeratinisasi. Sehingga terjadi penyumbatan pada muara folikel karena penumpukan sel-sel kulit mati, sebum, dan keratin. Hormon androgen, penurunan asam linoleat, peningkatan aktivitas IL-1alfa, dan pengaruh *Cutibacterium acnes* dapat memicu hiperproliferasi keratinosit.
2. Produksi Sebum Berlebih: Hormon androgen memicu kelenjar sebaseus untuk menghasilkan sebum secara berlebih. Kelebihan sebum menyediakan lingkungan yang mendukung pertumbuhan bakteri dan peradangan¹.
3. Kolonisasi *C. acnes*: *C. acnes* merupakan bakteri anaerob yang secara normal ada di kulit, tetapi dalam kondisi acne vulgaris, jumlahnya meningkat. *C. acnes* menghasilkan enzim lipase yang mengubah trigliserida dalam sebum menjadi asam lemak bebas, memicu respons inflamasi. Antigen dari *C. acnes* juga merangsang pembentukan antibodi, yang meningkatkan peradangan melalui produksi mediator proinflamasi.
4. Inflamasi: 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 genetik, ras, lingkungan, stres psikologis, dan penggunaan kosmetik juga dapat mempengaruhi perkembangan dari acne vulgaris.



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

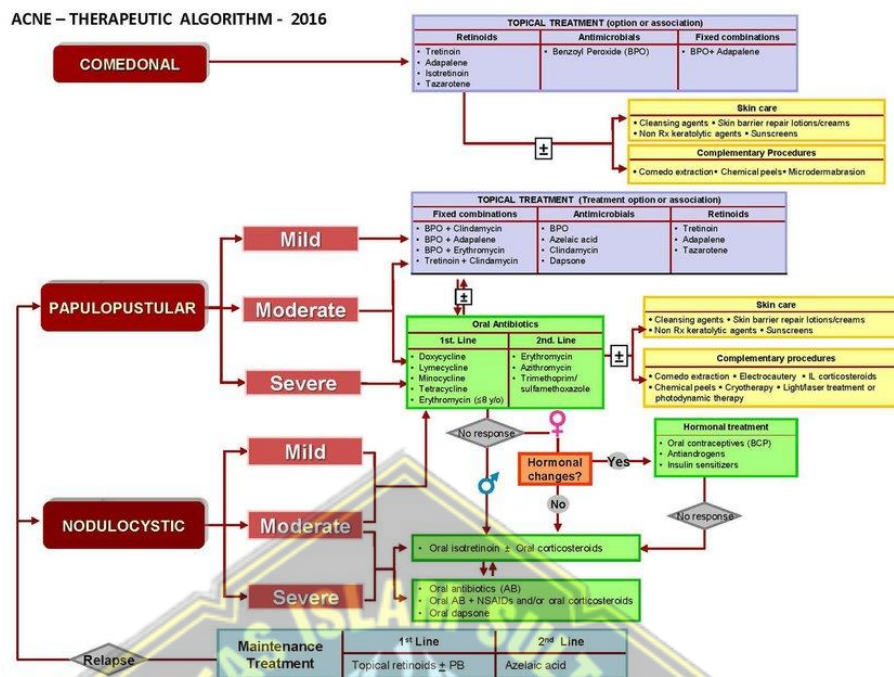
C. acnes dapat melepaskan berbagai komponen bioaktif, termasuk lipase, protease, dan lipoprotein, yang berperan dalam pemecahan trigliserida menjadi asam lemak bebas senyawa yang bersifat iritan dan proinflamasi bagi jaringan kulit. Komponen tersebut dikenali oleh reseptor pengenalan pola (*pattern recognition receptors*/PRRs) pada sel epitel dan sel imun, seperti TLR2, TLR4, TLR1, TLR6, CD36, dan PAR-2. Aktivasi reseptor ini menstimulasi jalur transduksi sinyal MyD88 dan NF-κB, yang mengarah pada ekspresi berbagai mediator inflamasi, termasuk IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α, dan GM-CSF. Produksi lipid teroksidasi dan

reactive oxygen species (ROS) juga mengaktivasi kompleks inflammasom NLRP3, yang pada gilirannya mengaktifkan Caspase-1 dan memproses IL-1 β ke bentuk aktifnya. Aktivasi inflammasom ini merupakan salah satu titik penting dalam mencetuskan inflamasi lokal yang khas pada jerawat.²⁷

Selain itu, *C. acnes* juga dapat memicu respon imun pada monosit melalui aktivasi sensor DNA intraseluler seperti cGAS-STING, serta adaptor TRIF, yang memperkuat sinyal inflamasi melalui pelepasan interferon tipe I dan mediator lainnya seperti PGE2 dan nitric oxide (NO). Akumulasi mediator inflamasi ini menyebabkan peradangan di sekitar folikel rambut dan kelenjar sebacea. Respons imun bawaan ini kemudian berlanjut pada aktivasi imun adaptif. Sitokin seperti IL-1 β , IL-6, IL-23, dan TGF- β mendukung diferensiasi sel T CD4⁺ menuju fenotipe Th17, yang menghasilkan IL-17A dan IL-17F. Kedua sitokin ini berperan penting dalam merekrut neutrofil ke lokasi inflamasi, menyebabkan akumulasi sel radang dan terbentuknya lesi inflamatorik seperti papul, pustul, dan nodul. Selain itu, aktivasi jalur Th1 oleh IL-12 juga meningkatkan produksi IFN- γ , yang berperan dalam aktivasi makrofag dan mempertahankan inflamasi kronik.²⁷

2.3.5 Penanganan Acne Vulgaris

Penanganan Acne vulgaris, terlepas dari tingkat keparahannya, dimulai dengan konseling pasien secara komprehensif, yang mencakup diskusi tentang sifat penyakit, perawatan kulit yang tepat, dan harapan perawatan yang realistis.⁴⁵



Gambar 2.2 Algoritma penanganan acne⁴¹

Tata laksana jerawat disesuaikan dengan tipe lesi dan derajat keparahannya, yang secara umum dibagi menjadi jerawat komedonal, papulopustular, dan nodulokistik. Jerawat komedonal umumnya ditangani dengan terapi topikal seperti retinoid (tretinoin, adapalene, isotretinoin, atau tazarotene) serta agen antimikroba seperti benzoyl peroxide (BPO), baik tunggal maupun dalam kombinasi tetap seperti BPO + adapalene. Perawatan tambahan meliputi agen pembersih, krim perbaikan sawar kulit, bahan keratolitik non-resep, dan tabir surya. Untuk kasus yang memerlukan tindakan kosmetik, dapat dilakukan ekstraksi komedo, chemical peel, atau mikrodermabrasi.⁴¹

Sementara itu, jerawat papulopustular dan nodulokistik yang bersifat inflamatorik memerlukan pendekatan lebih intensif tergantung tingkat keparahan. Pada derajat ringan hingga sedang, kombinasi topikal (retinoid dan antimikroba) dapat dikombinasikan dengan antibiotik oral seperti doksisisiklin atau minosiklin.

Tabel 2.3 Algoritma Tatalaksana Akne Vulgaris Rekomendasi Pokja PT AV-INA⁴⁰

Kategori	Ringan	Sedang	Berat
Agen Topikal			
Lini 1	Rt, AB ^a , BP, atau kombinasi ketiganya		AB ^a , BP
Lini 2		AS ^b , AA ^a	
Lini 3		Dapson, Klaskoteron ^c	
Antibiotik Sistemik			
Lini 1	-	Dok, Tetra, Mino, Sare ^c , E ^a	
Lini 2	-	Azitro ^a , Levo	
Lini 3	-	Dapson, Roks, TMP-SMX, Klinda ^a	
Terapi Hormonal			Iso^c
& Isotretinoin			Kondisi tertentu^d (kontraindikasi: KOK, Spiro, GKS)

Modalitas	ELA, PK	ELA, KIL, PK,	KIL, PK
Tambahan		terapi sinar	
Terapi			
Komplemen, Alternatif, & Diet	• Agen botani/vitamin • Diet glikemik rendah		
Dermokosmetik	PW, Mois, PS, KL, AM, AI, TS, Kamuf (atau kombinasi produk dermokosmetik)		

Pada jerawat ringan, pendekatan utama difokuskan pada penggunaan agen topikal seperti retinoid, antibiotik topikal (eritromisin atau klindamisin), dan benzoyl peroxide (BPO), baik secara tunggal maupun dalam kombinasi. Jika diperlukan, dapat ditambahkan asam salisilat atau asam azelat, serta agen topikal lini ketiga seperti dapson dan klaskoteron. Antibiotik sistemik tidak direkomendasikan untuk derajat ringan, namun pada kasus tertentu dapat digunakan doksisisiklin, tetrasiklin, minosiklin, atau sareksiklin sebagai lini pertama. Terapi tambahan seperti elektrokauter (ELA) dan peeling kimiawi (PK), serta pendekatan suportif melalui diet glikemik rendah dan penggunaan produk dermokosmetik seperti pelembap, tabir surya, dan agen antiinflamasi topikal juga dianjurkan sebagai bagian dari pendekatan multimodal.

Untuk jerawat sedang dan berat, kombinasi terapi topikal dan sistemik menjadi lebih dominan. Pada jerawat sedang, penggunaan antibiotik sistemik lini pertama (doksisisiklin, minosiklin, atau sareksiklin) dikombinasikan dengan topikal BPO atau retinoid menjadi tatalaksana utama, dan bila diperlukan dapat dilanjutkan

ke lini dua (azitromisin atau levofloksasin) dan lini tiga (dapson, roksitromisin, TMP-SMX, atau klindamisin oral). Terapi hormonal dan isotretinoin mulai dipertimbangkan pada jerawat sedang yang refrakter terhadap terapi awal, dengan perhatian khusus terhadap kontraindikasi penggunaan kontrasepsi oral kombinasi, spironolakton, atau kortikosteroid sistemik. Pada jerawat berat, isotretinoin oral menjadi terapi utama, baik tunggal maupun dikombinasikan dengan antibiotik sistemik atau antiinflamasi nonsteroid. Pendekatan ini diperkuat dengan terapi tambahan, terapi suportif, dan penggunaan kosmetik medikamentosa untuk memperbaiki hasil jangka panjang dan mencegah kekambuhan.

Acne vulgaris dianggap ringan jika muncul beberapa komedo yang tersebar atau papula inflamasi kecil tanpa jaringan parut. Ciri-ciri lainnya meliputi beberapa lesi pada satu area tubuh atau di beberapa area tubuh. Selain itu penting juga untuk memperhatikan tidak adanya nodul atau pertemuannya. Pendekatan pengobatan utama untuk Acne vulgaris adalah terapi topikal, yang umumnya melibatkan penggunaan retinoid topikal, antibiotik topikal, dan benzoil peroksida.³³

1) Klindamisin Topikal

Klindamisin topikal tersedia dalam berbagai formulasi dan kombinasi dengan benzoil peroksida atau retinoid topikal. Klindamisin topikal dioleskan sekali atau dua kali sehari. Saat menggunakan klindamisin topikal, dianjurkan untuk mengombinasikannya dengan benzoil peroksida untuk mengurangi risiko timbulnya resistensi antibiotik. Beberapa orang mungkin mengalami iritasi kulit sebagai efek samping yang mungkin terjadi dalam pengobatan klindamisin topikal.³³

2) Retinoid Topikal

Retinoid topikal merupakan turunan vitamin A yang bekerja dengan mengikat reseptor asam retinoat (RAR) dan reseptor retinoid X (RXR) di dalam keratinosit. Trifaroten hanya selektif terhadap reseptor RAR-gamma. Tretinoin, tazaroten, dan adapalen adalah retinoid topikal yang terutama bekerja pada reseptor RAR-beta dan RAR-gamma. Dari semuanya, tretinoin juga menargetkan reseptor RAR-alfa. Setelah mengikat, kompleks retinoid-reseptor terbentuk dan diangkut ke dalam inti sel, mengaktifkan elemen respons dari hormon retinoid, sehingga merangsang transkripsi beberapa gen pengatur. Hasil dari proses ini adalah normalisasi keratinisasi folikel dan pelonggaran kohesivitas keratinosit, sehingga dapat mengurangi pembentukan mikrokomedo.³³

Retinoid topikal, seperti tretinoin, tazarotene, adapalene, dan trifarotene, disertakan dalam penanganan awal bagi sebagian besar pasien dengan acne vulgaris. Obat-obatan ini secara efektif menargetkan komedo dan papula serta pustula inflamasi. Untuk pasien dengan acne vulgaris yang sebagian besar berupa komedo, retinoid topikal dapat digunakan sebagai monoterapi. Retinoid juga dapat direkomendasikan untuk terapi pemeliharaan setelah pengobatan berhasil. Pasien dengan acne papulopustular dapat memperoleh manfaat dari penambahan agen antimikroba topikal seperti benzoil peroksida atau antibiotik topikal. Antibiotik topikal idealnya harus digunakan dalam kombinasi dengan benzoil

peroksida untuk meminimalkan risiko munculnya bakteri yang resistan terhadap antibiotik.³³

Retinoid topikal harus dioleskan sekali sehari, sebaiknya pada malam hari, karena tretinoin bersifat fotolabilitas. Terapi adapalene dan trifarotene lebih stabil jika terkena cahaya. Sebelum mengoleskan retinoid, pastikan kulit kering terlebih dahulu. Lapisan tipis retinoid topikal harus dioleskan ke seluruh area yang terkena.³³

Beberapa efek samping dari retinoid topikal adalah kulit kering, iritasi, mengelupas, dan sensitif terhadap paparan sinar matahari karena penipisan kulit. Efek samping ini sering kali dapat diatasi dengan menggunakan pelembap wajah dan tabir surya nonkomedogenik.³³

3) Benzoil Peroksida

Benzoil peroksida bersifat komedolitik dan antimikroba. Benzoil peroksida tersedia dalam berbagai formulasi dan konsentrasi mulai dari 2,5% hingga 10%. Benzoil peroksida dioleskan sekali sehari, dengan fokus pada 1 atau 2 area kecil selama 3 hari pertama untuk menguji potensi dari reaksi hipersensitivitas. Benzoil peroksida tidak boleh dioleskan bersamaan dengan tretinoin karena terdapat efek oksidasi pada tretinoin. Benzoil peroksida harus dioleskan di pagi hari, sedangkan tretinoin harus dioleskan di malam hari.³³

4) Eritromisin Topikal

Eritromisin topikal dapat dianggap sebagai alternatif dari klindamisin topikal untuk mengobati jerawat. Akan tetapi, ada peningkatan laporan resistensi eritromisin, sehingga klindamisin menjadi pilihan yang lebih

banyak digunakan. Oleh karena itu, saat menggunakan klindamisin topikal, sebaiknya dikombinasikan dengan benzoil peroksida.³³

5) Asam Azelaic

Asam azelat merupakan asam dikarboksilat alami yang memiliki efek komedolitik, antimikroba, dan memutihkan karena sifatnya yang dapat menghambat enzim tirosinase, yang bermanfaat bagi pasien dengan hiperpigmentasi pascajerawat.³³

6) Asam Salisilat Topikal

Asam salisilat topikal dapat digunakan sebagai alternatif dari retinoid topikal bagi individu yang tidak dapat mentoleransi atau mendapatkannya. Dalam kasus di mana pasien awalnya tidak merespons retinoid topikal, benzoil peroksida, dan klindamisin, ada terapi topikal alternatif yang tersedia, yang meliputi dapson topikal, minosiklin topikal, dan klaskoteron (penghambat reseptor androgen topikal).³³

2.4 Faktor-Faktor Eksternal yang Memengaruhi MMP-9 dan IL-6

Beberapa faktor eksternal dapat memengaruhi kadar MMP-9 dan IL-6, yang merupakan biomarker utama dalam proses peradangan dan degradasi jaringan. Faktor-faktor tersebut mempengaruhi respons inflamasi dengan cara yang kompleks dan terintegrasi. Berikut adalah beberapa faktor utama yang memengaruhinya.^{46,47}

1. Hormon

Hormon berperan penting dalam regulasi kadar MMP-9 dan IL-6. Hormon estrogen, progesteron, dan testosteron secara signifikan dapat mempengaruhi aktivitas kedua molekul ini, terutama pada wanita. Estrogen dapat meningkatkan kadar IL-6, berperan dalam meningkatkan peradangan. Selama siklus menstruasi, kadar estrogen tinggi dapat merangsang peningkatan kadar IL-6 dalam darah, yang berhubungan dengan peningkatan peradangan tubuh, terutama pada wanita yang lebih rentan terhadap penyakit autoimun. Progesteron juga memiliki kontribusi pada peningkatan kadar IL-6, namun efeknya bervariasi tergantung pada fase siklus menstruasi. Kadar MMP-9 juga dipengaruhi oleh hormon, di mana peningkatan produksi estrogen dapat meningkatkan aktivasi MMP-9, yang berperan dalam remodeling jaringan pada penyembuhan luka. Hormon tersebut bekerja dalam keseimbangan yang rumit, sehingga perubahan dalam kadar hormon dapat menyebabkan disfungsi pada respon imun tubuh dan berkontribusi pada penyakit inflamasi.^{46,47}

2. Polusi

Polusi udara, terutama paparan terhadap partikel halus seperti PM_{2.5}, merupakan salah satu faktor eksternal yang dapat memengaruhi kadar IL-6 dan MMP-9. Polusi udara dapat menyebabkan stres oksidatif yang dapat merusak sel-sel tubuh dan memicu sistem peradangan sistemik. Paparan jangka panjang terhadap polusi udara terbukti dapat meningkatkan ekspresi IL-6, yang merupakan mediator utama dalam respon inflamasi. IL-6 yang berlebihan dapat merusak jaringan, memperburuk kondisi peradangan, dan berkontribusi pada peningkatan

penyakit jantung, gangguan pernapasan, dan kondisi inflamasi lainnya. Polusi udara dapat merangsang peningkatan aktivitas MMP-9, yang berperan dalam degradasi matriks ekstraseluler dan remodelasi jaringan. Proses ini berisiko mengarah pada kerusakan jaringan permanen, seperti yang terlihat pada penyakit paru-paru kronis dan penyakit kardiovaskular. Partikel polusi dapat mengganggu kemampuan tubuh untuk mempertahankan keseimbangan antara perbaikan dan kerusakan jaringan, memperburuk peradangan jangka panjang.^{46,47}

3. Paparan Sinar UV

Paparan sinar ultraviolet (UV) dari matahari dapat mempengaruhi kadar MMP-9 dan IL-6, terutama melalui kerusakan langsung pada kulit dan sistem imun. Sinar UV menyebabkan produksi radikal bebas yang merusak kolagen dan elastin kulit, meningkatkan aktivitas MMP-9. MMP-9 yang berlebihan mengarah pada degradasi matriks ekstraseluler dan kolagen, yang mempercepat penuaan kulit dan menyebabkan keriput. Paparan UV dapat meningkatkan produksi IL-6, yang berfungsi sebagai mediator utama dalam proses peradangan. IL-6 yang tinggi dapat memicu peradangan kulit, menyebabkan kemerahan, iritasi, dan kerusakan jaringan pada kulit. Paparan sinar UV juga dapat mempengaruhi respon imun dengan meningkatkan pelepasan sitokin pro-inflamasi, seperti IL-6, yang dapat memperburuk kerusakan kulit. Paparan sinar UV yang berlebihan dapat merusak integritas kulit, mempercepat penuaan, dan meningkatkan kerentanannya terhadap kanker kulit dengan memperburuk respon imun tubuh terhadap infeksi dan kerusakan.^{46,47}

4. Jenis Kelamin

Jenis kelamin memiliki peran dalam perbedaan kadar dari MMP-9 dan IL-6 antara pria dan wanita. Wanita memiliki kadar IL-6 yang lebih tinggi dibandingkan dengan pria, yang bisa berkontribusi pada kerentanannya terhadap penyakit inflamasi dan autoimun. Kadar IL-6 yang lebih tinggi pada wanita dapat dipengaruhi oleh fluktuasi hormon, terutama estrogen, yang berfungsi meningkatkan produksi IL-6, sehingga berkontribusi pada respons inflamasi yang lebih kuat. Perbedaan jenis kelamin dalam metabolisme dan komposisi tubuh juga dapat memengaruhi kadar MMP-9. Wanita dengan tingkat estrogen yang lebih tinggi cenderung menunjukkan kadar MMP-9 yang lebih tinggi, sehingga dapat mempercepat proses degradasi jaringan, sementara pria cenderung memiliki kadar yang lebih rendah. Faktor-faktor ini mempengaruhi kecenderungan wanita untuk mengembangkan kondisi seperti artritis rheumatoid dan lupus, yang terkait dengan peradangan kronis dan aktivasi MMP-9 dan IL-6. Perbedaan hormonal antara pria dan wanita memainkan peran besar dalam regulasi kedua biomarker inflamasi ini.^{46,47}

5. Konsumsi Alkohol dan Kebiasaan Merokok

Konsumsi alkohol berlebihan dan kebiasaan merokok memiliki dampak negatif yang signifikan terhadap kadar MMP-9 dan IL-6. Alkohol yang dikonsumsi dalam jumlah besar merangsang sistem imun dan meningkatkan produksi sitokin pro-inflamasi seperti IL-6. Kadar IL-6 yang lebih tinggi berkontribusi pada peningkatan peradangan tubuh yang berisiko mengarah pada berbagai penyakit kronis, seperti penyakit jantung dan diabetes. Merokok juga memperburuk

peradangan dan meningkatkan produksi MMP-9. Asap rokok mengandung banyak bahan kimia yang dapat merusak jaringan tubuh dan memicu peradangan kronis. Pada perokok, kadar MMP-9 sering kali lebih tinggi, sehingga dapat mempercepat kerusakan jaringan dan meningkatkan kerentanan terhadap penyakit paru-paru kronis. Kebiasaan merokok juga mengurangi kemampuan tubuh untuk memperbaiki kerusakan jaringan dengan mengganggu fungsi sistem imun dan memperburuk degradasi kolagen dan elastin.^{46,47}

6. Stres Psikologis

Stres psikologis yang berkepanjangan dapat merangsang produksi IL-6, sehingga dapat menyebabkan peradangan sistemik. Stres dapat meningkatkan pelepasan hormon kortisol, yang pada awalnya dapat mengurangi peradangan, tetapi ketika stres menjadi kronis, kortisol justru dapat memperburuk respon inflamasi. Kadar IL-6 yang tinggi akibat stres dapat merusak jaringan tubuh dan berkontribusi pada perkembangan penyakit inflamasi kronis, seperti arthritis dan penyakit jantung.

7. Usia

Usia dapat mempengaruhi kadar MMP-9 dan IL-6. Seiring bertambahnya usia, regulasi inflamasi tubuh menjadi kurang efisien, dan produksi IL-6 meningkat. Proses penuaan ini berhubungan dengan peningkatan kadar MMP-9, yang berperan dalam degradasi matriks ekstraseluler dan kolagen, mempercepat kerusakan jaringan dan memperburuk penyakit degeneratif. Pada usia tua, tubuh akan mengalami kesulitan dalam mengelola keseimbangan antara perbaikan dan

kerusakan jaringan, yang menyebabkan peningkatan risiko berbagai penyakit inflamasi dan degeneratif.^{46,47}

2.5 Metode Pengukuran IL-6 dan MMP-9

Metode pengukuran MMP-9 dan IL-6 menggunakan ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yang merupakan salah satu teknik yang paling banyak digunakan di laboratorium untuk mengukur kadar biomarker ini dengan tingkat akurasi dan sensitivitas yang tinggi. ELISA sangat berguna karena memungkinkan pengukuran yang kuantitatif dan pada konsentrasi biomarker yang sangat rendah, yang sering ditemukan dalam sampel biologis. Proses pengukuran dimulai dari pengambilan sampel biologis seperti serum, plasma, atau saliva dari individu yang diuji. Sampel ini mengandung biomarker yang ingin diukur, dalam hal ini MMP-9 atau IL-6, yang memiliki peran penting pada proses peradangan dan regenerasi jaringan.⁴⁸

Setelah pengambilan sampel, langkah pertama adalah penambahan sampel ke dalam sumur mikrotiter yang telah dilapisi dengan antibodi spesifik untuk MMP-9 atau IL-6. Antibodi pertama ini dirancang untuk mengenali dan berikatan dengan biomarker target, sehingga sampel biomarker akan terikat pada permukaan dari mikrotiter. Proses ini disebut sebagai tahap "capturing," di mana antibodi pertama berfungsi untuk menangkap biomarker yang ada di dalam sampel. Pada tahap ini, biasanya digunakan antibodi monoklonal yang memiliki spesifisitas tinggi terhadap MMP-9 atau IL-6, guna mengurangi kemungkinan interaksi silang dengan biomarker lain yang ada dalam sampel.⁴⁸

Setelah biomarker terikat dengan antibodi pertama, tahap selanjutnya adalah penambahan antibodi deteksi yang dilabeli dengan enzim. Antibodi deteksi tersebut berfungsi mengikat biomarker yang sudah terikat pada antibodi pertama. Enzim yang dilabelkan pada antibodi deteksi, seperti peroksidase horseradish (HRP) atau alkaline phosphatase (AP), akan mengkatalisis reaksi yang menghasilkan sinyal deteksi yang dapat diukur. Sinyal ini pada umumnya berupa perubahan warna, yang dapat dipantau menggunakan spektrofotometer atau pembaca mikrolat, tergantung pada jenis substrat yang akan digunakan. Selanjutnya, substrat enzim akan ditambahkan ke dalam sumur mikrolat. Enzim yang telah terikat pada antibodi deteksi akan mengkatalisis reaksi dengan substrat tersebut, menghasilkan produk yang berwarna atau fluoresen, yang menandakan keberadaan biomarker dalam sampel. Intensitas warna atau fluoresensi yang dihasilkan akan berbanding lurus dengan konsentrasi biomarker dalam sampel. Semakin banyak MMP-9 atau IL-6 yang ada dalam sampel, akan semakin kuat sinyal yang dihasilkan. Hasil ini kemudian dapat dihitung dengan membandingkan intensitas sinyal dengan kurva standar yang telah dibuat sebelumnya menggunakan sampel dengan konsentrasi biomarker yang telah diketahui.⁴⁸

Salah satu keunggulan utama dari ELISA adalah kemampuannya untuk memberikan hasil yang cepat dan bisa diandalkan dengan sensitivitas tinggi. Teknik ini memungkinkan untuk mengukur kadar MMP-9 dan IL-6 dalam jumlah sampel yang kecil, ketika hanya tersedia sampel yang terbatas atau mahal. ELISA juga memungkinkan untuk melakukan pengukuran simultan untuk banyak sampel, yang membuatnya sangat efisien dalam penelitian klinis atau laboratorium. Hal ini sangat

berguna ketika mengukur biomarker dalam populasi besar atau untuk uji skrining yang membutuhkan banyak sampel.

ELISA juga sangat fleksibel karena berbagai format yang dapat digunakan, seperti sandwich ELISA atau kompetitif ELISA, yang akan disesuaikan dengan jenis biomarker dan tujuan pengukuran. Dalam format sandwich ELISA, antibodi pertama menangkap biomarker, sementara antibodi deteksi terikat pada epitope yang berbeda pada biomarker, memastikan pengukuran yang lebih akurat dan mengurangi risiko interaksi silang dengan molekul lain. Teknik ini sering digunakan untuk mengukur biomarker yang lebih besar atau lebih kompleks, seperti MMP-9 dan IL-6, karena menyediakan lapisan perlindungan tambahan apabila ada kesalahan pengukuran.⁴⁸

Metode pengukuran MMP-9 dan IL-6 menggunakan ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) merupakan teknik yang sangat sensitif dan spesifik untuk mendeteksi kadar biomarker ini dalam sampel biologis. Prosedur dimulai dengan pengambilan sampel, seperti serum, plasma, atau saliva, yang kemudian diletakkan dalam sumur mikrotiter yang sudah dilapisi dengan antibodi spesifik yang dapat menangkap biomarker target (MMP-9 atau IL-6). Antibodi pertama ini bekerja dengan cara mengikat biomarker yang ada dalam sampel, sehingga biomarker tersebut akan terperangkap di dalam sumur. Setelah proses ini, antibodi deteksi yang dilabeli dengan enzim ditambahkan. Antibodi deteksi ini memiliki kemampuan untuk berikatan dengan biomarker yang sudah terikat pada antibodi pertama, memperkuat deteksi biomarker.⁴⁸

Setelah antibodi deteksi berikatan dengan biomarker, substrat enzim yang sesuai dapat ditambahkan ke dalam sumur. Enzim yang terikat pada antibodi deteksi akan mengkatalisis reaksi dengan substrat tersebut, menghasilkan perubahan warna atau sinyal fluoresen. Perubahan ini menandakan keberadaan biomarker dalam sampel. Intensitas warna atau fluoresensi yang dihasilkan berbanding lurus dengan jumlah biomarker yang ada dalam sampel, yang berarti semakin banyak MMP-9 atau IL-6 yang terkandung dalam sampel, semakin kuat sinyal yang terdeteksi. Sinyal ini kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer atau pembaca mikroplat, yang dapat membaca intensitas sinyal pada panjang gelombang tertentu.⁴⁸

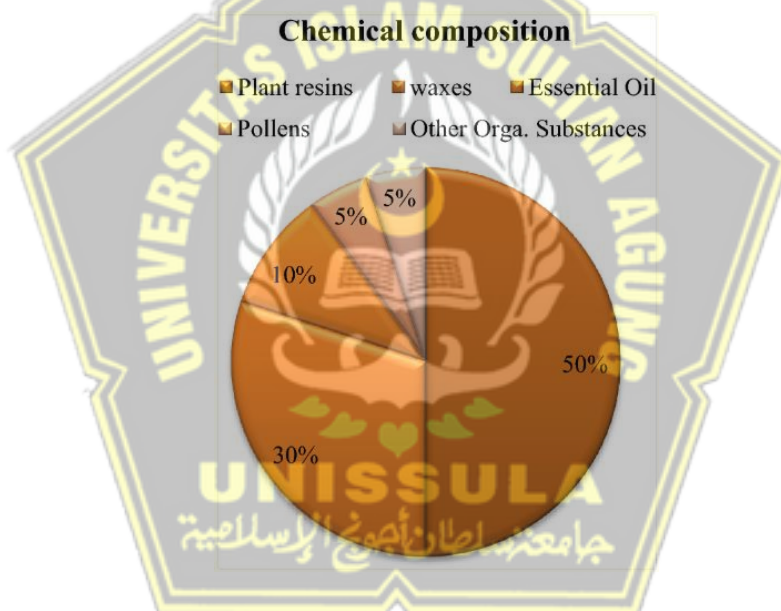
Keunggulan lain dari ELISA adalah kemampuannya untuk menghasilkan data kuantitatif yang berguna untuk analisis statistik dan interpretasi hasil. Data yang diperoleh dari ELISA dapat digunakan untuk memetakan hubungan antara kadar biomarker dengan kondisi klinis dan untuk mengevaluasi respons terhadap pengobatan. Pada penelitian yang mengukur IL-6 pada pasien dengan penyakit autoimun, perubahan kadar IL-6 dapat menjadi indikator penting efektivitas terapi. Demikian pula, pengukuran MMP-9 dapat memberikan wawasan tentang tingkat kerusakan jaringan dan perbaikan dalam pengobatan luka atau pada peradangan kronis.⁴⁸

2.6 Propolis dan Komponen Aktifnya

2.6.1 Sifat Fisik dan Komposisi Propolis

Warna propolis bervariasi menurut daerah dan sumber tanaman. Propolis mencair pada suhu 60 °C hingga 70 °C, sementara beberapa jenis lainnya mencair

pada suhu 100 °C. Keras pada suhu rendah sementara lunak pada suhu tinggi. . Etanol merupakan pelarut yang paling cocok untuk mendapatkan ekstrak propolis secara komersial, namun ada juga yang menggunakan metanol, kloroform, eter dan aseton. Propolis mentah tidak hanya mengandung resin tanaman, tetapi juga lilin, minyak esensial, serbuk sari, dan zat organik lainnya. 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.⁴⁹



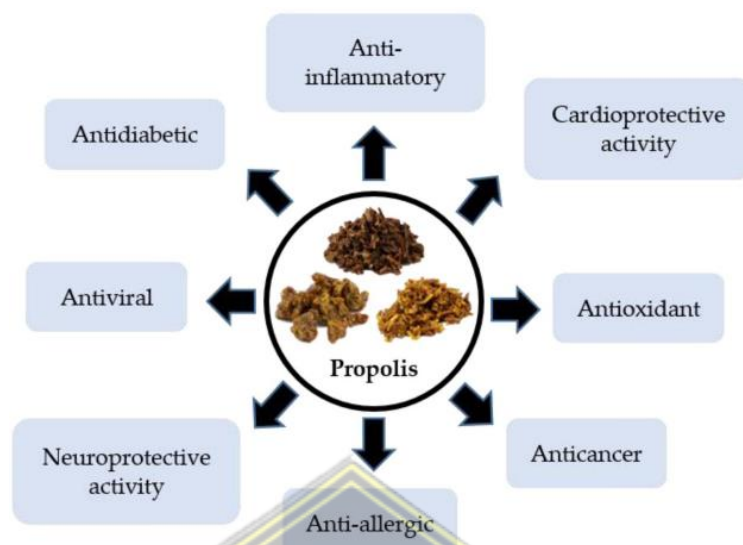
Gambar 2.3 Komposisi Propolis

Propolis terdiri terutama dari plant resin sebesar 50%, yang merupakan fraksi terbesar. Resin ini mengandung berbagai senyawa aktif biologis seperti flavonoid, fenolat, dan asam aromatik yang diketahui berperan dalam aktivitas antimikroba, antiinflamasi, dan antioksidan propolis. Selain itu, waxes menempati porsi kedua terbesar sebesar 30%. Komponen ini berfungsi sebagai matriks struktural yang bersifat hidrofobik dan melindungi kandungan bioaktif dari

degradasi lingkungan. Essential oils sebesar 10% berperan memberikan aroma khas dan aktivitas antibakteri tambahan melalui kandungan senyawa volatil seperti terpen dan aldehida aromatik. Pollens (5%) berkontribusi sebagai sumber nutrisi tambahan, termasuk protein, asam amino, dan vitamin. Sisanya, sekitar 5%, terdiri atas senyawa organik lainnya, seperti asam lemak, vitamin, dan mineral yang memperkaya aktivitas biologis propolis secara keseluruhan.⁴⁹

2.6.2 Manfaat Propolis

Propolis digunakan sebagai obat bakterisida, antivirus, dan antijamur dalam pengobatan tradisional untuk mengobati peradangan di beberapa area tubuh di seluruh dunia. Propolis juga digunakan untuk regenerasi kulit, penyembuhan luka, dan sebagai anestesi lokal. Propolis juga disarankan dalam pengobatan tradisional untuk pengobatan gangguan infeksi, karena telah terbukti meningkatkan penyembuhan luka. Propolis digunakan sebagai zat aktif dalam beberapa suplemen makanan, kosmetik, dan bahkan pemanis obat. Berbeda dengan madu dan bee pollen, propolis tidak memiliki nilai gizi, tetapi memberikan efek biotik yang sangat kuat. Propolis saat ini populer dalam makanan dan minuman sebagai cara untuk meningkatkan kesehatan dan mencegah penyakit. Selama bertahun-tahun, ekstrak etanol propolis telah dikenal memiliki sifat anti-inflamasi dan digunakan sebagai agen imunomodulator.^{50,51}



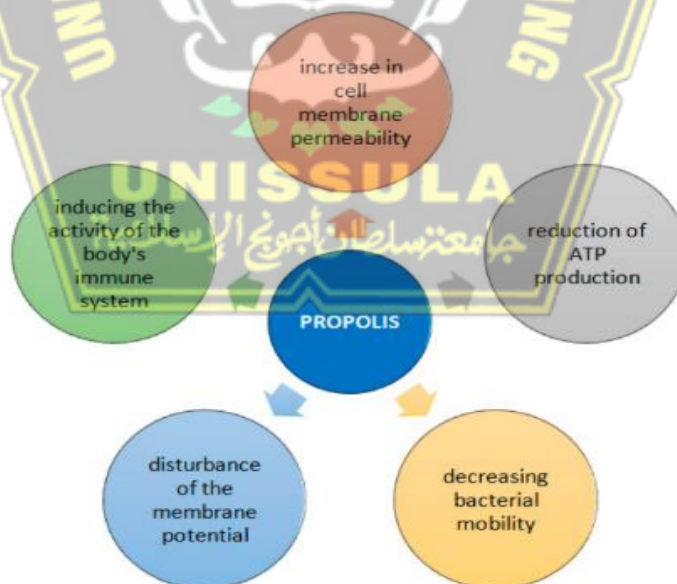
Gambar 2.4 Manfaat Propolis

Salah satu aktivitas utama propolis adalah anti-inflamasi, yang diperoleh melalui penghambatan jalur NF- κ B dan penurunan produksi sitokin proinflamasi seperti IL-1 β dan TNF- α . Efek ini mendukung perannya dalam berbagai penyakit inflamatorik kronis. Selain itu, propolis menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat dengan kemampuan menangkap radikal bebas dan meningkatkan sistem pertahanan enzimatik seperti SOD dan katalase. Aktivitas antivirus dan antibakteri juga telah dibuktikan melalui kemampuannya menghambat replikasi mikroorganisme patogen. Dalam konteks sistemik, propolis memiliki efek kardioprotektif, antikanker, antidiabetik, dan neuroprotektif, yang berkontribusi terhadap perlindungan organ-organ vital. Tidak hanya itu, propolis juga berperan sebagai agen anti-alergi, melalui penekanan respon hipersensitivitas, dan telah dikaji secara luas sebagai terapi komplementer dalam berbagai kondisi autoimun dan degeneratif. Dengan cakupan efek yang luas, propolis menjadi salah satu

kandidat penting dalam pengembangan terapi berbasis alam yang multifungsi dan berpotensi tinggi

2.6.3 Aktivitas Antibakteri Propolis

Propolis mempunyai efek yang signifikan terhadap bakteri seperti *Enterococcus* spp., *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Ekstrak etanol propolis diketahui efektif terhadap bakteri gram positif. Cara kerja propolis adalah melalui interaksi fenolik dengan senyawa lain seperti pinocembrin, galangin, dan pinobanksin. Demikian pula aktivitas antibakteri terjadi karena mengandung senyawa aktif seperti senyawa aromatik (asam kafeat) dan flavonoid. Selain itu, propolis juga berfungsi sebagai agen bakterisida, yaitu menghentikan pembelahan sel bakteri, menghancurkan dinding sel, sitoplasma bakteri dan menghentikan sintesis protein.⁵²



Gambar 2.5 Mekanisme aktivitas propolis terhadap bakteri

Aktivitas antibakteri pada propolis harus dipertimbangkan pada dua level. Pertama, ia terhubung dengan tindakan langsung pada mikroorganisme, dan yang

lainnya dengan stimulasi sistem imun yang mengakibatkan adanya 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. 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. Artepilin C (3,5-diprenyl- *p* -coumaric acid) adalah salah satu dari banyak senyawa fenolik (turunan prenyl dari asam *p* -coumaric) yang ditemukan dalam propolis. Dalam penelitian terhadap bakteri anaerob *Porphyromonas gingivalis* , ditemukan bahwa artepillin C memiliki aktivitas bakteriostatik dengan pembentukan gelembung pada membran. Artepilin C juga menunjukkan efek antiinflamasi yang dimediasi dengan modulasi NF-kappaB dan penghambatan prostaglandin E(2) dan oksida nitrat.⁵³

Turunan prenyl lain yang ditemukan dalam propolis, yaitu 3-prenyl-cinnamic acid allyl ester dan 2-dimethyl-8-prenylchromene, juga memiliki aktivitas antimikroba yang serupa. Efek antimikroba terhadap mikroba yang berhubungan dengan infeksi kulit, seperti *S. aureus* juga ditunjukkan oleh kaempferide. Ekstrak etanol propolis yang mengandung konsentrasi tinggi kaempferide, artepillin-C, drupanin dan asam *p* -coumaric menunjukkan aktivitas antioksidan dan antibakteri terhadap *S. aureus* , *S. saprophyticus* , *Listeria monocytogenes* dan *E. faecalis*.^{53,54}

Asam sinamat dan turunannya adalah kelompok asam karboksilat aromatik yang umum ditemukan di kingdom tumbuhan. Propolis, sebagai bahan yang sebagian besar terdiri dari sekresi tumbuhan, merupakan sumber asam sinamat dan ester yang kaya. Asam sinamat dan turunannya dapat menghambat bakteri dengan merusak membran sel, menghambat ATPase, pembelahan sel dan pembentukan biofilm. Selain itu, mereka memiliki aktivitas anti-quorum sensing.⁵³

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.^{53,55}

Efektivitas lipase juga berperan 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*.⁵³

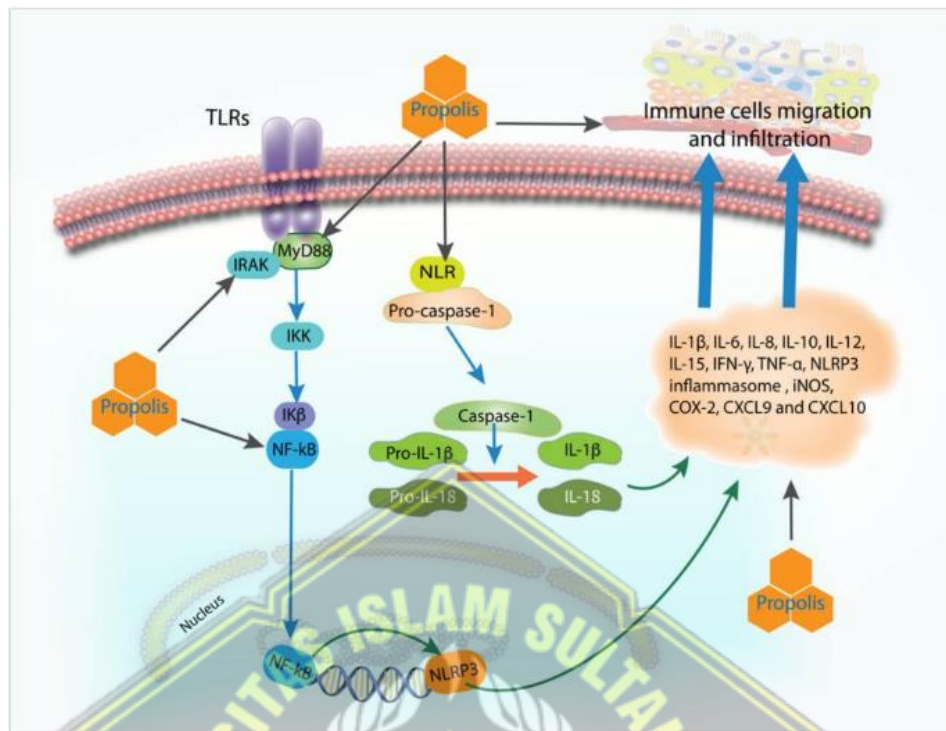
Evaluasi aktivitas antibakteri ekstrak propolis didasarkan pada penentuan kandungan fenolik total (TP) dan flavonoid (FP). Uji TP dan FP tidak selalu mencerminkan aktivitas antimikroba secara memadai secara in vitro. Hasil TP dalam sampel dengan kandungan tertinggi dan terendah berbanding lurus dengan kandungan flavonoid dan sifat antioksidan. Namun, keduanya tidak ambigu dalam kasus aktivitas antibakteri. Uji lainnya seperti ORAC (Oxygen Radical Absorbance

Capacity) dan uji antimikroba, dipertimbangkan dalam menetapkan standar kualitas internasional untuk propolis. ⁵³

Kombinasi propolis dan madu juga telah diteliti dapat meningkatkan efek antimikroba (untuk *S. aureus* dan *E. coli*). Efek ini signifikan untuk propolis Saudi (hampir dua kali menurunkan nilai MIC). Penelitian mengenai aksi propolis pada bakteri anaerob masih terbatas. Namun, menunjukkan aktivitas yang tinggi 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). ⁵³

2.6.4 Propolis dalam Peradangan

Propolis bertindak sebagai zat anti-inflamasi dengan menghambat dan menurunkan regulasi inflamasi TLR4, MyD88, IRAK4, TRIF, NLRP, dan sitokin pro-inflamasi terkaitnya, seperti IL-1 β , IL-6, IFN- γ , dan TNF- α . Propolis dapat mengurangi migrasi sel imun, seperti makrofag dan neutrofil, dengan menurunkan regulasi kemokin CXCL9 dan CXCL10. ⁵⁶



Gambar 2.6 Mekanisme kerja propolis dalam memodulasi peradangan⁵⁶

Respons yang berlawanan diamati dalam beberapa penelitian yang terkait dengan penyembuhan luka. Propolis mendorong respons peradangan yang intens dalam proses penyembuhan luka awal. Peradangan kemudian berkurang secara nyata segera setelah luka awal. Hasilnya, luka yang diobati dengan propolis 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 β , IL-6, TNF- α , dan hs-CRP, dan pengurangan infiltrasi sel imun di lokasi peradangan. 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.⁵⁶

Beberapa penelitian yang menyelidiki efek propolis pada komponen sistem imun telah dilakukan dalam penelitian *in vitro* dan *ex vivo*. Propolis memiliki efek modulasi inflamasi pada imunitas bawaan. Pada makrofag peritoneum yang diaktifkan LPS yang diisolasi dari tikus C57BL6, propolis mengurangi ekspresi sitokin inflamasi seperti IL-1 α , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-13, monosit chemoattractant protein-1 (MCP1), dan granulosit-makrofag colony-stimulating factor (GM-CSF).⁵⁶

Beberapa penelitian *in vivo* menunjukkan efek propolis dalam memodulasi sistem imun menuju profil regulasi dan lingkungan anti inflamasi. Propolis menstimulasi trans-diferensiasi makrofag M1 menjadi D11b⁺, Gr-1⁺ myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) pada jaringan adiposa visceral dan rongga peritoneum tikus kurus dan gemuk. Trans-diferensiasi ini memiliki hasil 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- γ , TNF- α , IL-1 β , dan IL-6). Hasil menunjukkan bahwa propolis melemahkan peningkatan infiltrasi neutrofil yang disebabkan oleh injeksi monosodium urat (MSU) intraperitoneal. Propolis juga menghambat ekspresi IL-1 β yang diinduksi MSU, caspase-1 aktif, IL-6, dan MCP-1 dalam cairan lavage peritoneal.^{57,58}

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- α dan IL-6 pro-inflamasi dan meningkatkan IL-10 anti-inflamasi.⁵⁹ Penelitian lain

juga telah mengkonfirmasi kemanjuran ekstrak propolis dari berbagai lokasi geografis dalam mengurangi ekspresi sitokin pro-inflamasi TNF- α , IL-1 β , 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.^{26,60–62}

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa propolis menunjukkan beberapa aspek aktivitas pro-inflamasi dalam lingkungan imunosupresif, yang menunjukkan kemampuan propolis untuk bertindak sebagai imunomodulator. Propolis juga berpotensi melawan efek imunosupresif obat kemoterapi doksorubisin. Propolis meningkatkan ekspresi TLR-4, TNF- α , NF- κ B, dan IL-10 pada monosit yang terpapar doksorubisin. Menariknya, ekspresi IL-1 β dan fosforilasi I κ B α pada monosit yang terpapar doksorubisin berkurang dengan adanya propolis.⁶³

Dalam sejumlah penelitian, efek Propolis terhadap kadar TNF- α dan CRP telah diteliti. Beberapa penelitian memiliki durasi yang lebih pendek dan beberapa penelitian memiliki periode intervensi yang lebih panjang. Selain itu, beberapa penelitian mengamati efek positif Propolis dalam mengurangi peradangan, tetapi penelitian lain tidak menunjukkan efek yang signifikan.⁶⁴

2.6.5 Serum Ekstrak Propolis

Serum dipilih sebagai formula karena kemampuannya yang unggul dalam meningkatkan penetrasi bahan aktif ke dalam kulit. Dengan tekstur yang ringan dan konsentrasi bahan aktif yang tinggi, serum mampu menyerap dengan cepat dan membawa senyawa bioaktif propolis ke lapisan epidermis dan dermis secara lebih

efektif. Penelitian menunjukkan bahwa serum, yang memiliki viskositas rendah dan ukuran partikel kecil, dapat menembus lapisan kulit dengan lebih efisien dibandingkan dengan sediaan topikal lainnya seperti krim dan salep. Kemampuan ini memungkinkan bahan aktif propolis mencapai target di bawah permukaan kulit dengan lebih optimal.⁶⁵ Serum dengan basis cair ini memaksimalkan penyerapan senyawa fenolik dari propolis, yang berperan penting dalam efek anti-inflamasi, antioksidan, dan penyembuhan luka.⁶⁵

Serum ekstrak propolis diharapkan dapat meningkatkan penetrasi senyawa anti-inflamasi dan antioksidan, seperti flavonoid, ke dalam kulit, yang berkontribusi pada peningkatan efektivitas dalam penyembuhan luka dan peradangan. Penelitian lain juga mengkonfirmasi bahwa serum lebih baik dalam membawa bahan aktif seperti propolis ke dalam kulit dibandingkan dengan salep atau krim, dengan tingkat penetrasi yang lebih dalam dan cepat, menghasilkan efek terapeutik yang lebih optimal dalam pengobatan kondisi kulit seperti peradangan dan infeksi. Dengan kemampuan penetrasi yang lebih baik, serum propolis tidak hanya memastikan pengiriman bahan aktif yang lebih efisien, tetapi juga mempercepat pemulihan dan meningkatkan perlindungan kulit secara keseluruhan.⁶⁶

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori

Acne vulgaris merupakan gangguan inflamasi pada kulit yang terjadi akibat peradangan pada folikel pilosebaceous, yang melibatkan faktor-faktor utama seperti kelebihan produksi sebum, kerusakan pada folikel, pertumbuhan bakteri, terutama *C. acnes*, dan peradangan. Penyumbatan pori-pori oleh sebum dan keratin menyebabkan terbentuknya komedo, yang kemudian bisa berkembang menjadi lesi inflamasi yang dipicu oleh infeksi bakteri dan respons imun tubuh.

C. acnes adalah bakteri anaerobik gram positif yang secara alami ditemukan pada kulit manusia. *C. acnes* menempel pada folikel rambut yang tersumbat dan berkembang biak dengan memfermentasi sebum, menghasilkan asam lemak yang bersifat iritan, yang merangsang reaksi inflamasi. *C. acnes* memainkan peran utama dalam terjadinya peradangan kulit, yang ditandai dengan peningkatan produksi IL-6. IL-6, sebagai salah satu sitokin proinflamasi, diproduksi sebagai respons terhadap infeksi *C. acnes* dan memicu aktivasi jalur NF- κ B, yang memperburuk peradangan dan kerusakan jaringan kulit, memperburuk lesi jerawat. Ketika *C. acnes* berkembang biak, sel-sel imun, seperti makrofag dan neutrofil, mengidentifikasi bakteri ini dan merespons dengan melepaskan sitokin proinflamasi dan protease, termasuk MMP-9, yang dapat merusak jaringan sekitar dan meningkatkan peradangan.

IL-6 adalah sitokin pleiotropik yang diproduksi oleh berbagai jenis sel, termasuk sel-sel imun, fibroblas, dan sel endotel. IL-6 berperan penting dalam respons imun dan inflamasi, serta berkontribusi pada proses penyembuhan jaringan. Dalam konteks acne vulgaris, IL-6 diproduksi oleh berbagai sel, termasuk sel-sel imun dan keratinosit, sebagai respons terhadap infeksi dan kerusakan jaringan. Peningkatan kadar IL-6 dalam serum pasien dengan acne vulgaris telah terbukti berkorelasi positif dengan keparahan penyakit. Penelitian menunjukkan bahwa kadar IL-6 yang lebih tinggi ditemukan pada individu dengan acne yang lebih parah, menunjukkan bahwa IL-6 berkontribusi pada proses inflamasi yang terjadi di kulit.³⁰

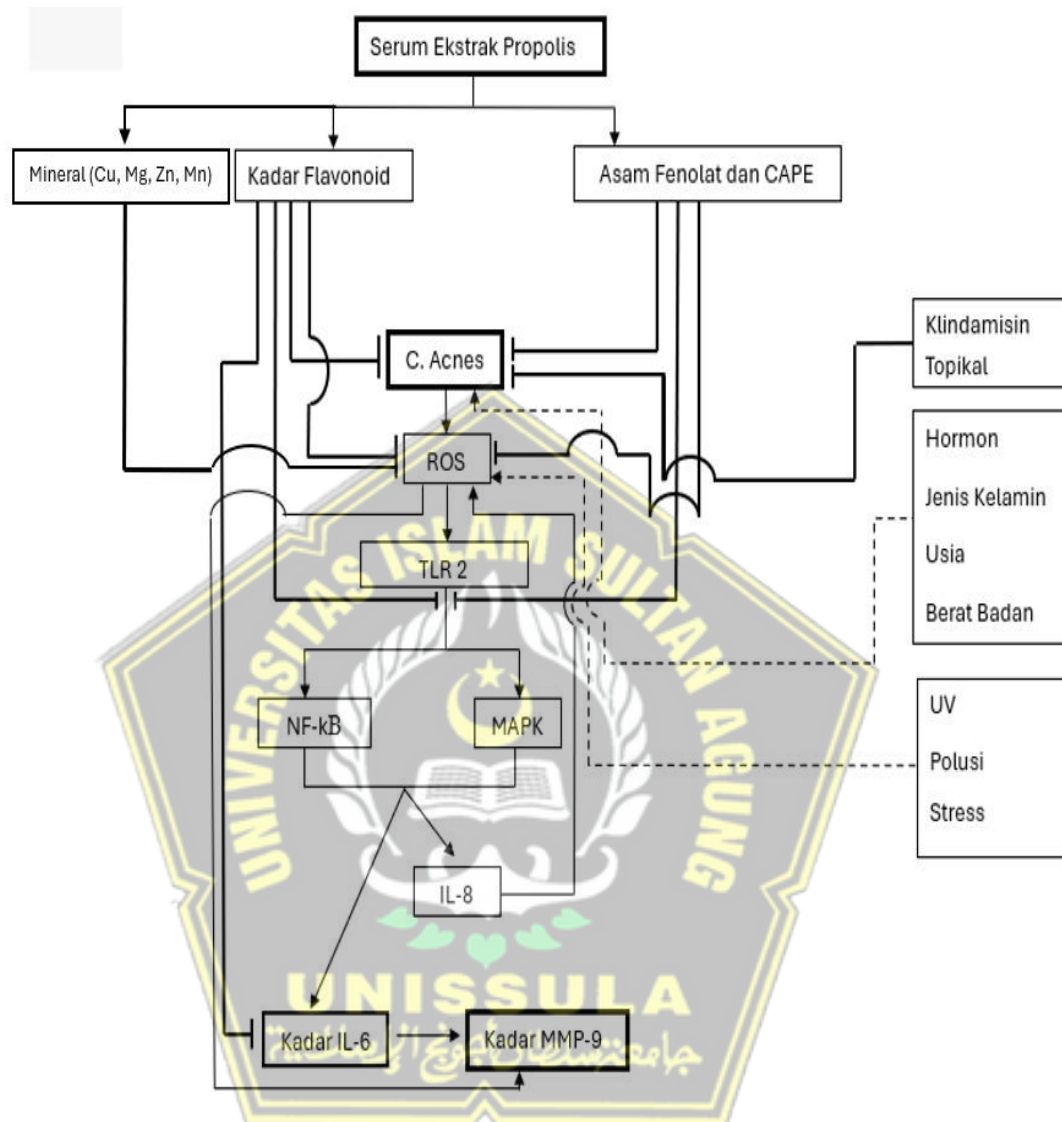
MMP-9 adalah enzim yang berperan dalam degradasi matriks ekstraseluler (ECM) dan kolagen. Pada jerawat inflamasi, MMP-9 banyak diproduksi oleh sel-sel imun, terutama neutrofil, sebagai respons terhadap infeksi dan inflamasi. MMP-9 berfungsi untuk memecah komponen ECM, yang membantu migrasi sel-sel imun ke lokasi infeksi, tetapi juga dapat merusak jaringan sehat di sekitar folikel rambut, memperburuk inflamasi dan memperlambat penyembuhan luka. Pada jerawat, tingginya kadar MMP-9 berkaitan dengan pembentukan jaringan parut dan peradangan yang berkepanjangan.

Saat ini salah satu pengobatan acne vulgaris yang paling banyak digunakan adalah klindamisin topikal. Klindamisin topikal merupakan antibiotik yang sering digunakan dalam pengobatan acne vulgaris untuk mengatasi infeksi bakteri, terutama yang disebabkan oleh *Cutibacterium acnes*. Klindamisin bekerja dengan menghambat sintesis protein bakteri, yang mengurangi proliferasi dan aktivitas

bakteri penyebab jerawat. Penggunaan antibiotik topikal jangka panjang dapat berisiko menyebabkan resistensi bakteri, sehingga menjadi tantangan besar dalam pengobatan jerawat. Saat ini perlu pertimbangan untuk mencegah resistensi dan mempertahankan efektivitas pengobatan acne dalam jangka panjang. Pengobatan dengan antibiotik topikal juga tidak direkomendasikan lebih dari tiga bulan. Propolis dengan mekanisme kerja alami yang meliputi efek antibakteri, antiinflamasi, dan antioksidan, memberikan pilihan yang lebih aman dengan potensi efek samping yang lebih rendah bisa menjadi alternatif. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa propolis dapat menghambat pertumbuhan *C. acnes* dan mengurangi respons inflamasi, membuatnya menjadi alternatif terapi yang menjanjikan untuk jerawat tanpa risiko resistensi bakteri.

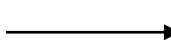
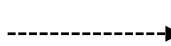
Senyawa-senyawa seperti flavonoid dalam propolis dapat mengganggu metabolisme bakteri, merusak membran sel bakteri, dan menghambat adhesi bakteri ke permukaan folikel rambut. Dengan mengurangi kolonisasi *C. acnes*, propolis membantu mengurangi infeksi yang menyebabkan jerawat inflamasi. Propolis memiliki sifat antiinflamasi yang kuat berkat senyawa seperti quercetin dan asam caffeic yang dapat menurunkan aktivasi jalur inflamasi yang dipicu oleh *C. acnes*. Ekstrak propolis juga menghambat produksi MMP-9 dengan menghambat jalur NF- κ B (Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), yang berperan dalam sintesis enzim-enzim inflamasi dan protease seperti MMP-9. Selain efek antiinflamasi, propolis juga dapat mempercepat penyembuhan kulit yang terluka dengan meningkatkan proliferasi sel-sel kulit dan pembentukan kolagen, yang membantu memperbaiki jaringan yang rusak akibat inflamasi dan infeksi.

Kerangka Teori

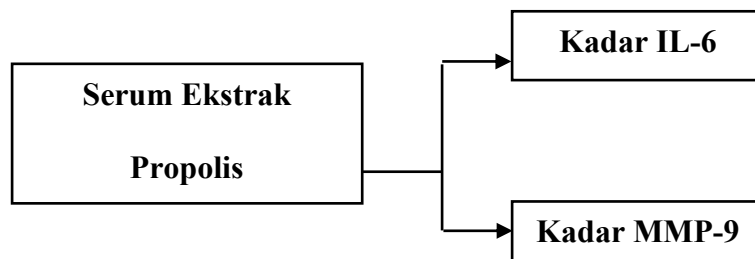


Gambar 3.1 Kerangka Teori

Keterangan :

- | | | | |
|---|--------------------|---|--------------------------------|
|  | : Menghambat |  | : Variabel yang diteliti |
|  | : Meningkatkan |  | : Variabel yang tidak diteliti |
|  | : Variabel Perancu | | |

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis

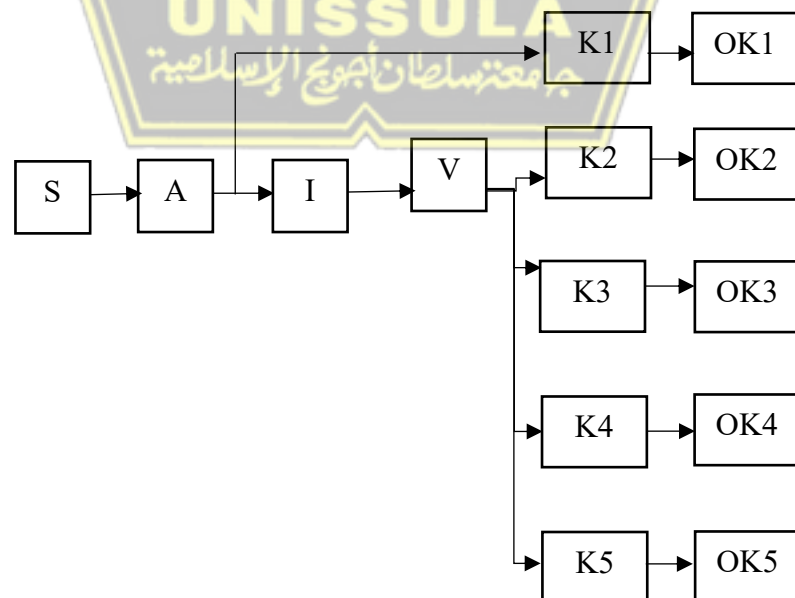
Terdapat pengaruh pemberian serum ekstrak propolis terhadap kadar MMP-9 dan IL-6 pada mencit jantan galur Wistar dengan jerawat derajat sedang yang dipapar *Cutibacterium acnes*, dibandingkan dengan kontrol.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design* untuk menilai pengaruh serum ekstrak propolis dalam proses penembuhan acne pada model mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi bakteri *C.acnes* dengan mengukur kadar MMP-9 dan kadar IL-6. Penelitian ini memberikan gambaran mengenai dampak serum ekstrak propolis terhadap proses penyembuhan acne, serta membandingkan efek perlakuan pada kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif, dan kelompok perlakuan.⁶⁷



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

S : Sampling

A : Aklimatisasi

I : Induksi

V : Validasi acne

K1 : Kelompok mencit dalam keadaan sehat (tanpa perlakuan)

K2 : Kelompok mencit dengan acne yang diberi placebo (base serum)

K3 : Kelompok mencit dengan acne yang diberi klindamisin gel 1%

K4 : Kelompok mencit dengan acne yang diberi serum ekstrak propolis

1%

K5 : Kelompok mencit dengan acne yang diberi serum ekstrak propolis

2%

OK1 : Observasi kadar IL-6 dan MMP-9 K1

OK2 : Observasi kadar IL-6 dan MMP-9 K2

OK3 : Observasi kadar IL-6 dan MMP-9 K3

OK4 : Observasi kadar IL-6 dan MMP-9 K4

OK5 : Observasi kadar IL-6 dan MMP-9 K5

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan 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 acne

c. Kriteria Drop Out

1. Mengalami kondisi kesehatan kritis atau kematian selama proses perlakuan.

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 (30% dan 40%).

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

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. Untuk mengantisipasi hilangnya unit eksperimen maka dilakukan koreksi dengan rumus: $n / 1-DO,50$ dimana proporsi unit eksperimen yang hilang atau drop out sebanyak 10%, maka:

$$n \text{ akhir tiap kelompok} = n / 1-DO$$

$$n = 5 / 1-10\%$$

$$n = 5,5 \sim 6$$

jumlah sampel dalam setiap kelompok adalah 6 ekor mencit, sehingga untuk 5 kelompok diperlukan sampel sebanyak 30 ekor.

4.2.3 Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Pengambilan sampel pada penelitian ini dengan menggunakan teknik *probability 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. 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%).

4.3 Variabel dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel Terikat (Dependen)

- 1) Kadar Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9)

Definisi Operasional:

MMP-9 adalah enzim yang berperan dalam degradasi matriks ekstraseluler dan proses peradangan pada kulit yang berjerawat.

Indikator: Konsentrasi MMP-9 (dalam pg/mL) di jaringan mencit.

Skala : Rasio

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

2) Kadar Interleukin 6 (IL-6).

Definisi Operasional:

IL-6 adalah sitokin yang berperan dalam proses inflamasi dan respons imun. Pada acne vulgaris, IL-6 berkontribusi pada peradangan dan dapat meningkatkan produksi sebum, yang memperburuk kondisi acne.

Indikator: Konsentrasi IL-6 (dalam pg/mL) di jaringan mencit.

Skala : Rasio

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

4.3.2 Variabel Bebas (Independen)

Konsentrasi serum ekstrak propolis (1% dan 2%).

Definisi Operasional:

Sediaan topikal berbasis ekstrak propolis dengan berbagai konsentrasi (1% dan 2%) yang diaplikasikan pada kulit punggung mencit.

Cara Pengukuran: Serum ekstrak propolis dioleskan 0,1ml/1cm² pada area acne satu kali sehari pukul 10.00 selama 7 hari.

Skala: Ordinal

4.4 Bahan dan Alat Penelitian

4.4.1 Bahan

- Mencit jantan 25 ekor dengan usia 6-8 minggu, dan berat badan 20-30 gram,
- Serum ekstrak propolis 1%,
- Serum ekstrak propolis 2%,
- Basis serum,
- Klindamisin gel 1%,
- Ketamine,
- Phosphate Buffered Saline (PBS) steril,
- Buffer lisis untuk melisiskan jaringan saat proses homogenisasi
- Reagen ELISA
 - Reagen Rat MMP-9 ELISA kit,
 - Reagen Rat IL-6 ELISA kit.

4.4.2 Alat

- Timbangan digital,
- Anaerobic Jar,
- Inkubator,
- Cawan Petri dan Tabung Kultur,
- Pisau cukur,
- Alat bedah kecil (scalpel, pinset, gunting)
- Mikrosiringe,

- Mikropipet,
- Tabung eppendorf,
- Inkubator,
- Cooler box,
- Centrifuge,
- Punch biopsy,
- Kamera digital,
- ELISA reader.

4.4 Prosedur Penelitian

4.4.1 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).

4.4.2 Perolehan Serum Ekstrak Propolis

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

4.4.3 Tatacara Pembuatan Esktrak

- a) Propolis mentah dikumpulkan dan dibersihkan dari kotoran.
- b) Propolis dikeringkan dan dihancurkan menjadi serbuk halus.
- c) Serbuk propolis direndam dalam etanol 70% dengan perbandingan tertentu (1:10, w/v).
- d) Campuran diekstraksi menggunakan metode maserasi selama 7 hari pada suhu ruang, dikocok sesekali.
- e) Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring.
- f) Filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu rendah ($\leq 40^{\circ}\text{C}$) untuk menghilangkan etanol dan mendapatkan ekstrak kental (ekstrak etanolik propolis).
- g) Ekstrak disimpan dalam botol kaca gelap di suhu 4°C sampai digunakan.

4.4.4 Cara Pembuatan Serum

- a) Siapkan ekstrak propolis: Gunakan EEP hasil maserasi dan evaporasi.
- b) Larutkan dalam gliserin: Campurkan propolis ke gliserin hingga homogen.
- c) Tambahkan Tween 80: Emulsifier ini akan membantu larutkan EEP dalam air.
- d) Encerkan dengan aquadest steril: Tambahkan hingga mencapai 100 mL total volume.
- e) Aduk dan homogenisasi: Gunakan stirrer magnetik jika ada, atau aduk terus hingga larutan bening atau sedikit keruh homogen.

- f) Cek dan sesuaikan pH: Sesuaikan dengan NaOH atau HCl tetes demi tetes hingga pH 5.5–6.5.
- g) Saring dan simpan: Saring larutan dan simpan di botol steril berwarna gelap pada suhu 4°C.

4.4.5 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).
- c) Kondisi pemeliharaan: isipkan dalam kandang ventilasi standar, suhu: 22 ± 2 °C, siklus terang-gelap: 12 jam terang, 12 jam gelap

4.4.6 Induksi Acne Vulgaris

- a) Suspensi bakteri *C.acnes* diperoleh dari Thermoscientific. Produk ini dipilih karena telah memiliki standar kualitas yang terjamin dan digunakan dalam penelitian, sehingga memberikan konsistensi dan validitas pada hasil penelitian.
- b) Dilakukan pencukuran terlebih dahulu pada daerah punggung mencit
- c) Mencit dianestesi menggunakan ketamin (100mg/kgBB) untuk menghindari stres.
- d) Cutibacterium acnes (10^8 CFU/mL) disiapkan dalam larutan steril.
- e) Larutan *C. acnes* diinjeksikan intradermal pada punggung mencit dengan volume 50 µL atau sebanyak 0,05 ml menggunakan jarum steril.

- f) Setelah induksi dilakukan, diobservasi selama 5 hari, dan dilakukan validasi pada setiap mencit.
- g) Dilakukan pemeriksaan visual dan palpasi pada area yang diinduksi acne. Tanda-tanda yang menjadi kriteria diagnosis berupa munculnya benjolan berupa papul atau nodul atau pustule, serta terdapat eritema dan pembengkakan pada area suntikan. Dengan ditemukan lesi tersebut, sehingga mencit berhasil menyerupai kondisi acne dan dapat dilanjutkan tahap perlakuan selanjutnya.

4.4.7 Perlakuan dengan Serum Propolis

- a) Mencit dibagi ke dalam lima kelompok:
- K1 = Kelompok sehat
 - K2 = Kontrol negatif (dengan base serum).
 - K3 = Kontrol positif (klindamisin topikal).
 - K4 = Perlakuan serum ekstrak propolis 1%
 - K5 = Perlakuan serum ekstrak propolis 2%.
- b) Serum diaplikasikan secara topikal 0,1ml/cm² satu kali sehari pada pagi hari pukul 10.00 pada area kulit yang terinduksi selama 7 hari.

4.4.8 Pengambilan Sampel

- a. 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),

- b. Potong jaringan kulit pada lesi jerawat dengan hati-hati menggunakan gunting bedah kecil dan pinset anatomi steril,
- c. Cuci jaringan kulit menggunakan buffer PBS dingin untuk menghilangkan darah dan kontaminan,
- d. Simpan sementara jika jaringan tidak dapat segera diproses, dibekukan dengan snap freezing menggunakan nitrogen cair, lalu disimpan di freezer (-80oC),
- e. Jaringan di homogenisasi dengan menyiapkan buffer lisis dingin (RIPA buffer) dengan menambahkan protease inhibitor sesuai dosis rekomendasi produsen,
- f. Potong jaringan menjadi potongan kecil (1-2 mm) dengan gunting steril untuk mempermudah homogeinsasi,
- g. Potongan jaringan dimasukkan kedalam tabung microcentifuge yang berisi 500 – 1000 mikroliter buffer lisis dingin,
- h. Homogenisasi jaringan dengan:
 - Mortar dan pestle: Nitrogen cair ditambahkan untuk menjaga suhu dingin,
 - Homogenizer elektrik: Gunakan kecepatan sedang-tinggi hingga jaringan menjadi halus,
- i. Inkubasi homogenate pada suhu 4°C selama 30-60 menit dengan pengocokan berkala (vortex setiap 10 menit),
- j. Homogenat di sentrifugasi pada 12.000-14.000 rpm selama 15- 20 menit pada suhu 4oC,

k. Setelah sentrifugasi, akan terbentuk 3 lapisan:

- Supernatan (mengandung protein terlarut, termasuk MMP-9 dan IL-6),
- Lapisan tengah (debris jaringan),
- Pelet (material tidak larut), Supernatan diambil secara hati-hati menggunakan pipet steril, hindari mengganggu lapisan debris atau pelet dan supernatant dipindahkan ke tabung microcentrifuge baru,

l. Supernatan disimpan di freezer (-80°C) hingga siap dianalisis menggunakan ELISA.

4.4.9 Analisis Kadar MMP-9 dan IL-6 dengan Metode ELISA

Sampel jaringan kulit yang diperoleh dianalisis kadar MMP-9 dan IL-6 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 μ L cairan standar dan 50 μ L diluent standar dicampur ke sumuran 1 dan 2 (campuran 1),
- 100 μ L campuran 1 dan 50 μ L diluent standar dicampur ke sumuran 3 dan 4 (campuran 2),
- 100 μ L campuran 2 dan 50 μ L diluent standar dicampur ke sumuran 5 dan 6 (campuran 3),

- 100 μ L campuran 3 dan 50 μ L diluent standar dicampur ke sumuran 7 dan 8 (campuran 4).
- B. Antibodi ditambahkan dan dinkubasi selama 30 menit pada suhu 37oC, 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 37oC atau selama semalam pada suhu 4 oC
- D. Sampel dimasukkan sebanyak 100 μ L ke tiap sumuran, Inkubasi selama 120 menit pada suhu ruangan.
- E. Antibodi pada tiap sumuran ditambahkan sebanyak 100 μ L biotinylated antibody pada tiap sumuran.
- F. Plate diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37oC atau selama semalam pada suhu 4oC. Pencucian pada plate dilakukan sebanyak 5 kali dan ditambahkan 100 μ L ABC Solution pada tiap sumuran lalu inkubasi selama 30 menit dengan suhu 37oC. 71
- G. HRP-Conjugate dan TMB ditambahkan masing-masing sebanyak 100 μ L pada tiap sumuran dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37oC.
- H. Larutan stop solution ditambahkan sebanyak 100 μ 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 MMP-9 dan IL-6.

4.6.8 Pengolahan Data Awal

- a) Data yang diperoleh berupa: Kadar MMP-9 dan IL-6 (pg/mL): Diperoleh dari hasil pembacaan ELISA menggunakan *microplate reader*.
- b) Setiap data dikumpulkan dari masing-masing kelompok perlakuan (kelompok sehat, kontrol negatif, kontrol positif, dan kelompok propolis dosis 1%, dan 2%).

4.6.9 Pengujian Statistik

Analisis data pada penelitian ini dilakukan secara bertahap untuk menentukan adanya perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. Tahap pertama adalah analisis deskriptif untuk memperoleh nilai rerata, simpangan baku, serta nilai minimum dan maksimum kadar MMP-9 dan IL-6 pada masing-masing kelompok. Selanjutnya, dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel 25 ekor, dengan tujuan menilai apakah distribusi data bersifat normal. Setelah itu, dilakukan uji homogenitas varians dengan *Levene's Test* untuk mengetahui kesamaan varians antar kelompok. Disini didapatkan sebaran data tidak normal dan tidak homogen karena diperoleh nilai $p > 0,05$, maka perbedaan antar kelompok dinyatakan bermakna dan dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaan pada masing-masing pasangan kelompok. Disini hasil uji menunjukkan $p < 0,05$, maka analisis dilanjutkan dengan uji

Mann–Whitney untuk mengidentifikasi pasangan kelompok yang berbeda signifikan. Seluruh pengolahan data dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS25 for Windows dengan tingkat kemaknaan (α) sebesar 0,05.

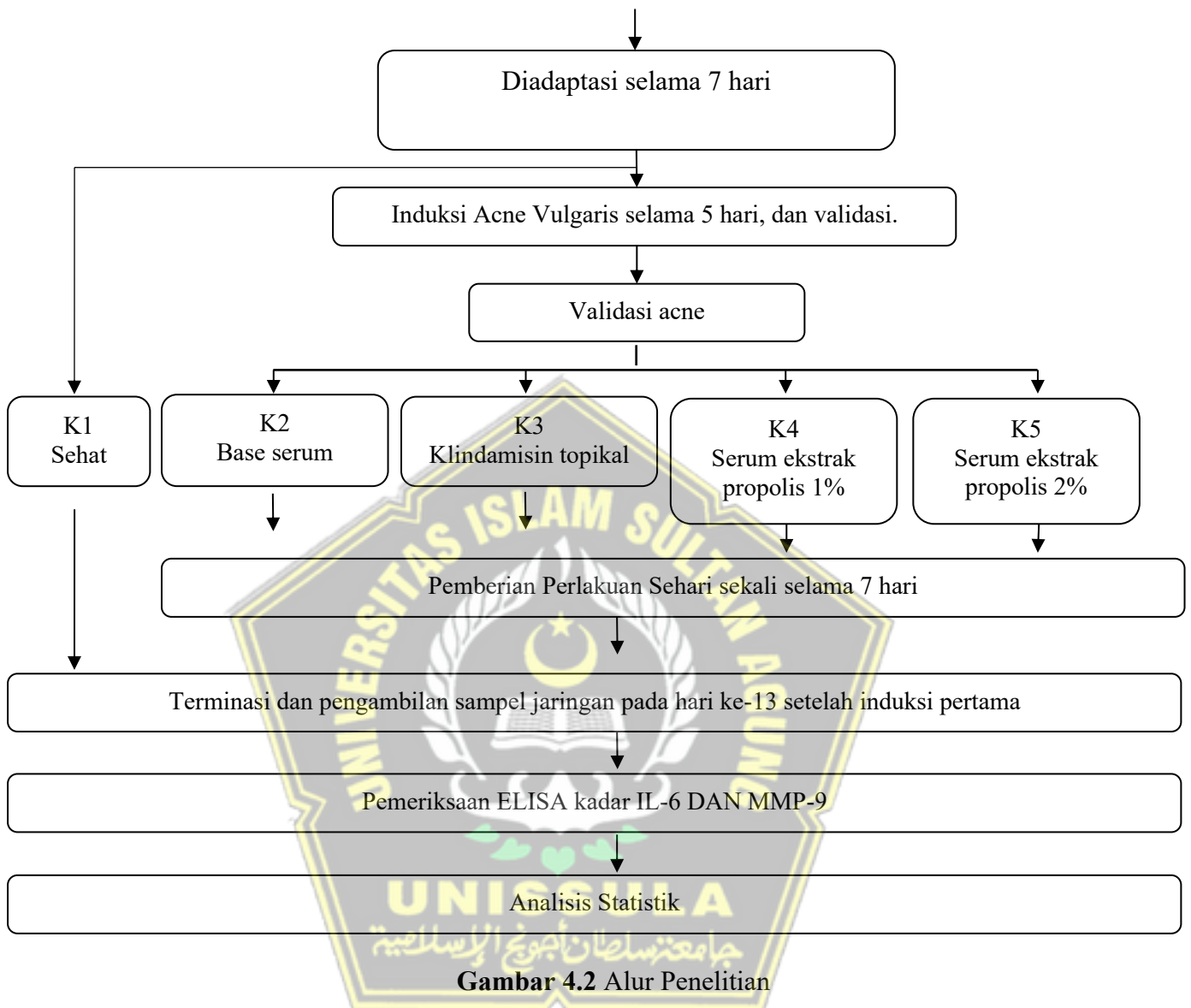
4.5 Tempat Penelitian

Serum ekstrak propolis dibeli dari PT INBI NUSANTARA SEJAHTERA dan penelitian utama akan dilaksanakan di Laboratorium IBL Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang dan pemeriksaan kadar menggunakan ELISa dilakukan di Laboratorium Klinik CITO Semarang.

4.6 Alur Penelitian



Mencit 25 ekor



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh serum ekstrak propolis terhadap kadar MMP-9 dan IL-6 pada model jerawat yang diinduksi bakteri *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) pada mencit jantan *Mus musculus*. Penelitian ini dilakukan selama 13 hari dengan 25 ekor mencit yang dibagi dalam lima kelompok perlakuan. Induksi jerawat dimulai pada hari pertama (H-1) dengan injeksi intradermal suspensi *C. acnes* pada kulit punggung mencit. Proses induksi ini berlangsung selama lima hari berturut-turut, di mana lesi jerawat terbentuk. Setelah induksi selesai, pada hari ke-6, dilakukan validasi model jerawat untuk memastikan bahwa lesi yang terbentuk sudah sesuai dengan kondisi jerawat yang diinginkan.

Setelah validasi model jerawat pada hari ke-6, perlakuan dimulai. Serum ekstrak propolis diberikan setiap hari pada area lesi untuk kelompok K4 (1%) dan K5 (2%) selama tujuh hari berturut-turut. Kelompok kontrol positif (K3) diberikan terapi topikal klindamisin, kelompok kontrol negatif (K2) hanya diberikan placebo, dan kelompok sehat (K1) tidak menerima perlakuan. Perlakuan dilakukan dengan aplikasi rutin setiap hari untuk memastikan dosis yang konsisten. Selama total 12 hari perlakuan, tidak ada mencit yang mati, yang menandakan bahwa prosedur induksi dan perlakuan dilakukan dengan aman tanpa efek samping fatal. Pada hari ke-13, sampel jaringan kulit diambil dari area lesi untuk dianalisis kadar MMP-9 dan IL-6 menggunakan metode ELISA.

5.1.1 Validasi Model Hewan *Acne-Like*

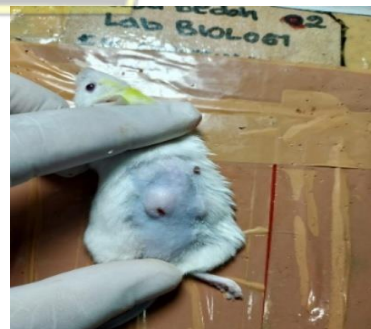
Validasi model jerawat dilakukan dengan membandingkan kondisi kulit antara dua mencit. Mencit pertama adalah mencit sehat, yang tidak diinduksi dengan *C. acnes* dan menunjukkan kulit yang halus tanpa lesi atau benjolan. Mencit kedua adalah kelompok yang telah diinduksi *C. acnes* yang menunjukkan lesi jerawat berupa benjolan kecil atau tonjolan pada kulit punggung, karakteristik utama dari jerawat. Benjolan ini adalah hasil dari peradangan akibat infeksi bakteri, yang menyebabkan pembentukan pustula atau tonjolan pada kulit. Perbedaan kondisi kulit mencit pada setiap kelompok dapat diamati dengan jelas pada Gambar 5.1. Gambar 5.1a menunjukkan kulit mencit sehat yang tampak halus dan tidak terdapat benjolan maupun lesi, sehingga digunakan sebagai kondisi fisiologis normal untuk pembandingan.

Pada kelompok kontrol negatif (Gambar 5.1b), baik pada hari pertama maupun hari ke-7 perlakuan terlihat benjolan atau papul di kulit punggung ± 3 mm disertai kemerahan disekitarnya. Lesi jerawat tampak tetap jelas hingga akhir perlakuan, menandakan bahwa paparan *C. acnes* berhasil mempertahankan kondisi inflamasi dan tidak ada intervensi yang menekan proses tersebut. Gambar 5.1c memperlihatkan kulit mencit pada kelompok kontrol positif (klindamisin). Pada hari pertama perlakuan, pada kulit punggung terlihat benjolan atau papul ± 3 mm, disertai kemerahan. Setelah tujuh hari perlakuan, benjolan masih terlihat, namun jumlah dan ukurannya tampak lebih ringan dibanding hari pertama, menandakan adanya perbaikan meski belum mengembalikan kulit ke kondisi normal.

Pada kelompok perlakuan propolis 1% (Gambar 5.1d), kondisi kulit pada hari pertama pada kulit punggung terlihat benjolan atau papul ± 3 mm, disertai kemerahan. Setelah tujuh hari perlakuan, benjolan masih tampak, tetapi jumlah dan ukurannya berkurang bila dibandingkan hari pertama, memperlihatkan efek antiinflamasi meskipun belum optimal. Adapun pada kelompok perlakuan propolis 2% (Gambar 5.1e), lesi jerawat masih terlihat pada hari pertama, serupa dengan kelompok lainnya, pada kulit punggung terlihat benjolan atau papul ± 3 mm, disertai kemerahan. Namun pada hari ke-7, ukuran benjolan tampak lebih berkurang dan kemerahannya mulai berkurang dibanding kelompok klindamisin maupun propolis 1%. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun inflamasi belum hilang sepenuhnya, konsentrasi propolis 2% memberikan perbaikan paling nyata dalam menurunkan derajat inflamasi dan mendekatkan kondisi kulit pada keadaan fisiologis sehat.



(a)

**Hari Pertama Perlakuan****Hari Ke-7 Perlakuan**

(b)



Hari Pertama Perlakuan

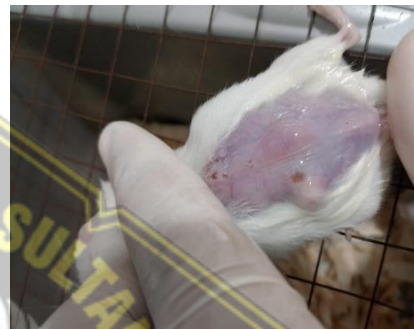


Hari Ke-7 Perlakuan

(c)



Hari Pertama Perlakuan



Hari Ke-7 Perlakuan

(d)



Hari Pertama Perlakuan



Hari Ke-7 Perlakuan

(e)

Gambar 5.1 Validasi model *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 1%

5.1.2 Hasil Analisis Kadar MMP-9

Berdasarkan hasil penelitian pada kadar MMP-9 pada tabel 5.1, rerata tertinggi diperoleh pada kelompok K3 ($2,34 \pm 0,288$), diikuti oleh K1 ($2,18 \pm 0,238$), K2 ($1,91 \pm 0,178$), K4 ($1,13 \pm 0,601$), dan terendah pada K5 ($0,94 \pm 0,055$). Uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai $p < 0,05$ pada seluruh kelompok kecuali K3 ($p = 0,061$) dan K5 ($p = 0,031$), sehingga sebagian besar kelompok tidak berdistribusi normal. Uji homogenitas varians dengan *Levene's Test* menunjukkan $p = 0,034$ ($p < 0,05$), yang menandakan varians antar kelompok tidak homogen. Karena asumsi uji parametrik tidak terpenuhi, analisis dilanjutkan menggunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*. Hasil uji tersebut menunjukkan $p = 0,003$ ($p < 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan bermakna kadar MMP-9 antar kelompok.

Tabel 5.1 Hasil Analisis Kadar MMP-9

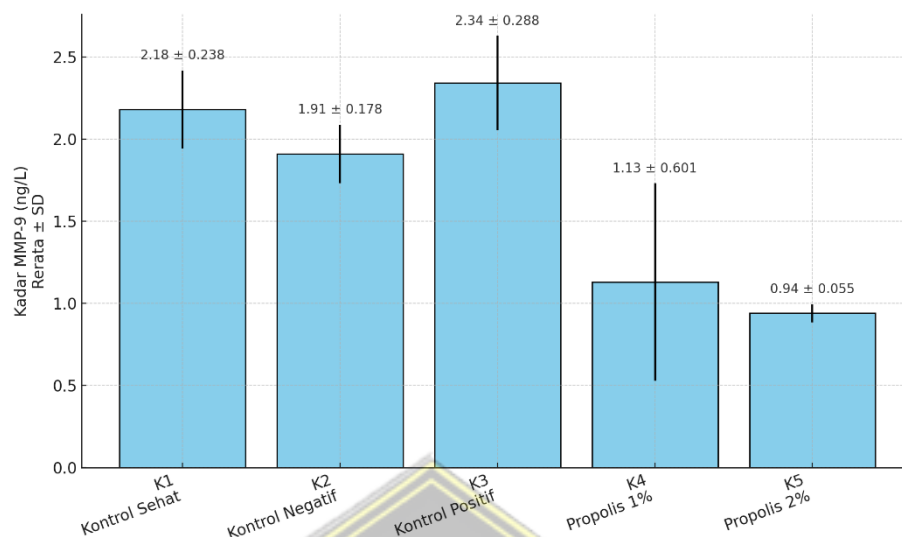
Variabel	Kelompok					<i>p value</i>
	K1	K2	K3	K4	K5	
	Mean $\pm$ SD n=5	Mean $\pm$ SD n=5	Mean $\pm$ SD n=5	Mean $\pm$ SD n=5	Mean $\pm$ SD n=5	
Kadar MMP-9	2.18 ± 0.238	1.91 ± 0.178	2.34 ± 0.288	1.13 ± 0.601	0.94 ± 0.055	
<i>Saphiro Wilk</i>	0.012	0.024	0.061	0.001	0.031	
<i>Levene's Test</i>						0.034
<i>Kruskal Wallis</i>						0.003*

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney* (tabel 5.2) terhadap kadar MMP-9 pada model *acne-like* yang diinduksi *Cutibacterium acnes*, menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara beberapa pasangan kelompok terhadap kadar MMP-9. Kelompok kontrol sehat (K1) memiliki perbedaan yang bermakna dengan

kelompok propolis 2% (K5) ($p = 0,009$). Namun, tidak ditemukan perbedaan bermakna antara K1 dengan kelompok kontrol negatif (K2) ($p = 0,036$), kontrol positif (K3) ($p = 0,138$), maupun propolis 1% (K4) ($p = 0,075$). Kelompok kontrol negatif (K2) menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kontrol positif (K3) ($p = 0,009$) dan propolis 2% (K5) ($p = 0,009$), tetapi tidak berbeda bermakna dengan propolis 1% (K4) ($p = 0,117$). Sementara itu, kelompok kontrol positif (K3) memiliki perbedaan yang bermakna dengan propolis 1% (K4) ($p = 0,047$) dan propolis 2% (K5) ($p = 0,009$). Perbandingan antara kelompok propolis 1% (K4) dan propolis 2% (K5) juga menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p = 0,009$). Dengan demikian, perbedaan signifikan kadar MMP-9 terutama terlihat pada perbandingan K1 dengan K5, K2 dengan K3 dan K5, serta K3 dengan K4 dan K5, juga K4 dengan K5.

Tabel 5.2 Uji *Mann-Whitney* antar kelompok terhadap kadar MMP-9

Kadar MMP-9					
Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5
K1	-	0.036*	0.138	0,075	0.009*
K2	-	-	0.009*	0.117	0.009*
K3	-	-	-	0.047*	0.009*
K4	-	-	-	-	0.009*
K5	-	-	-	-	-



Gambar 5.2 Grafik Rerata Kadar MMP-9

5.1.3 Hasil Analisis Kadar IL-6

Rerata kadar IL-6 (tabel 5.3) tertinggi terdapat pada K1 ($12,42 \pm 0,887$), diikuti oleh K4 ($11,66 \pm 0,152$), K3 ($11,12 \pm 0,89$), K2 ($9,48 \pm 0,726$), dan terendah pada K5 ($8,96 \pm 1,069$). Uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan $p > 0,05$ pada K1 ($p = 0,588$), K4 ($p = 0,086$), dan K5 ($p = 0,134$), sedangkan K2 ($p = 0,007$) dan K3 ($p = 0,033$) menunjukkan distribusi tidak normal. Uji homogenitas varians *Levene's Test* menunjukkan $p = 0,318$ ($p > 0,05$), yang berarti varians antar kelompok homogen. Karena terdapat kelompok yang tidak berdistribusi normal, analisis dilanjutkan menggunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*. Hasil uji tersebut menunjukkan $p = 0,001$ ($p < 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan bermakna kadar IL-6 antar kelompok.

Tabel 5.3 Hasil Analisis Kadar IL-6

Variabel	Kelompok					<i>p value</i>
	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	
Kadar IL-6	12.42 ± 0.887	9.48 ± 0.726	11.12 ± 0.89	11.66 ± 0.152	8.96 ± 1.069	
<i>Saphiro Wilk</i>	0.588	0.007	0.033	0.086	0.134	
<i>Levene's Test</i>						0.318
<i>Kruskal Wallis</i>						0.001*

Keterangan:

*: berpengaruh signifikan

Pada kadar IL-6, uji *Mann-Whitney* (tabel 5.4) menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara beberapa pasangan kelompok terhadap kadar IL-6. Kelompok kontrol sehat (K1) memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol negatif (K2) ($p = 0,009$), serta dengan kelompok propolis 2% (K5) ($p = 0,009$). Hal ini menunjukkan bahwa kadar IL-6 pada kelompok K2 maupun K5 berbeda nyata dibandingkan kelompok sehat. Sementara itu, tidak ditemukan perbedaan yang bermakna antara K1 dengan kontrol positif (K3) ($p = 0,075$) maupun propolis 1% (K4) ($p = 0,115$).

Kelompok kontrol negatif (K2) juga menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kontrol positif (K3) ($p = 0,009$) dan propolis 1% (K4) ($p = 0,008$). Namun, perbandingan antara K2 dengan propolis 2% (K5) tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p = 0,171$). Selain itu, kelompok kontrol positif (K3) memiliki perbedaan yang bermakna dengan propolis 2% (K5) ($p = 0,009$), sedangkan perbandingan K3 dengan propolis 1% (K4) tidak signifikan ($p = 0,114$). Perbandingan antara kelompok propolis 1% (K4) dan propolis 2% (K5)

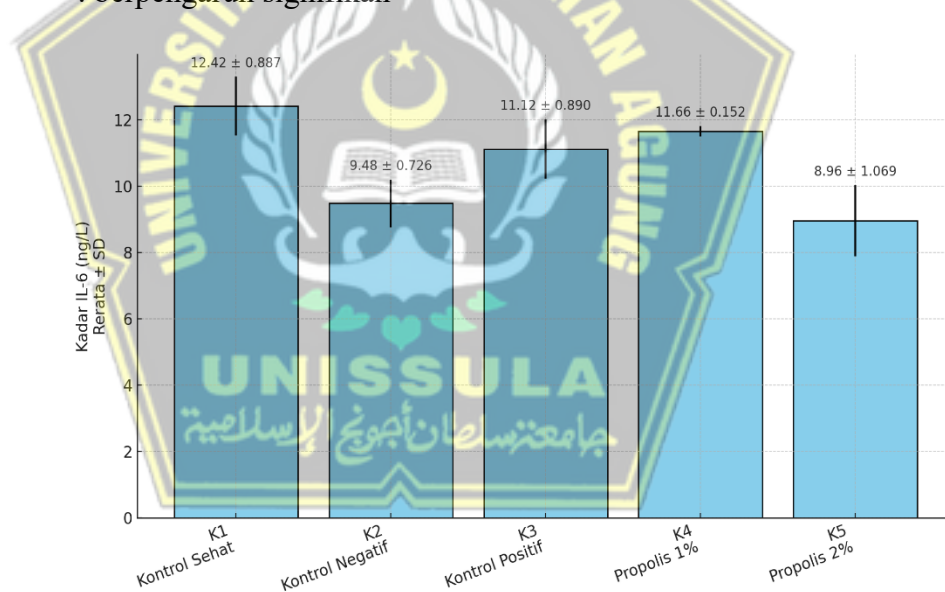
menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p = 0,009$). Dengan demikian, perbedaan signifikan kadar IL-6 terutama terlihat antara kelompok kontrol sehat dengan K2 dan K5, antara K2 dengan K3 dan K4, serta antara K3 dengan K5, dan K4 dengan K5.

Tabel 5.4 Uji *Mann-Whitney* antar kelompok terhadap kadar IL-6

Kadar IL-6					
Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5
K1	-	0.009*	0.075	0.115	0.009*
K2	-	-	0.009*	0.008*	0.171
K3	-	-	-	0.114	0.009*
K4	-	-	-	-	0.009*
K5	-	-	-	-	-

Keterangan:

*: berpengaruh signifikan



Gambar 5.3 Grafik Rerata Kadar IL-6

5.2 Pembahasan

Paparan atau induksi *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) pada model mencit, secara konsisten memicu respons inflamasi lokal yang menyerupai patogenesis acne pada manusia. Proses ini diawali dengan pengenalan komponen dinding sel *C. acnes* oleh *Toll-like receptor 2* (TLR2), dan dalam kondisi tertentu TLR4, yang terekspresi pada keratinosit dan makrofag. Aktivasi reseptor ini menginisiasi rekrutmen adaptor intraseluler *myeloid differentiation primary response 88* (MyD88), yang kemudian mengaktifkan kaskade sinyal menuju translokasi faktor transkripsi *nuclear factor-kappa B* (NF- κ B) ke dalam inti sel. NF- κ B yang teraktivasi akan masuk ke inti sel dan menginduksi ekspresi berbagai gen proinflamasi.^{68,69} Akibatnya, keratinosit dan sel imun menghasilkan sejumlah mediator inflamasi, antara lain *interleukin-6* (IL-6) dan enzim *matriks metaloproteinase-9* (MMP-9).

Hasil penelitian terhadap kadar MMP-9 menunjukkan adanya variasi yang jelas antar kelompok perlakuan. Pada kelompok sehat (K1), kadar MMP-9 berada pada kisaran fisiologis normal dan menjadi pembanding kondisi tanpa inflamasi. Setelah paparan *Cutibacterium acnes*, kelompok kontrol negatif (K2) menunjukkan peningkatan inflamasi dengan kadar MMP-9 yang lebih tinggi dibanding K1, menandakan bahwa *C. acnes* berhasil memicu respon inflamasi melalui aktivasi TLR2/TLR4 yang berujung pada peningkatan ekspresi MMP-9. Kondisi berbeda tampak pada kelompok kontrol positif (K3) yang mendapat terapi klindamisin. Meski secara klinis klindamisin efektif menekan populasi bakteri, kadar MMP-9 justru tercatat paling tinggi di kelompok ini. Hal ini dapat dijelaskan karena

mekanisme utama klindamisin adalah antibakteri, bukan penghambatan jalur inflamasi, sehingga ekspresi enzim proinflamasi tetap meningkat walau jumlah bakteri berkurang.^{70,71}

Pada kelompok perlakuan serum propolis 1% (K4), terjadi penurunan kadar MMP-9 dibanding kelompok kontrol, namun efeknya belum maksimal sehingga nilainya masih mendekati kelompok sehat. Sebaliknya, kelompok propolis 2% (K5) mengalami penurunan kadar MMP-9 yang paling besar dibanding seluruh kelompok lain, bahkan lebih rendah daripada kontrol sehat. Hal ini memperlihatkan bahwa propolis, khususnya pada konsentrasi lebih tinggi, memiliki potensi antiinflamasi yang kuat melalui hambatan aktivasi NF- κ B oleh senyawa aktif seperti flavonoid dan CAPE. Efek dosis-respons juga terlihat jelas, di mana peningkatan konsentrasi propolis dari 1% menjadi 2% menghasilkan penekanan inflamasi yang lebih signifikan.^{72,73}

Pada hasil yang tidak signifikan pada uji perbandingan antar kelompok, seperti perbandingan K1–K4 dan K2–K4, dapat dijelaskan berdasarkan kesamaan profil inflamasi antar kelompok. K1 (sehat) dan K4 (propolis 1%) memiliki kadar MMP-9 yang relatif mendekati kondisi fisiologis normal, karena propolis 1% mampu menekan inflamasi hingga menyerupai kelompok sehat. Sementara itu, K2 (placebo) dan K4 menunjukkan kadar MMP-9 yang tidak berbeda nyata kemungkinan karena efek propolis 1% belum cukup optimal dalam menekan MMP-9, sehingga nilainya masih berdekatan dengan kelompok placebo.

Pada biomarker IL-6, pola yang muncul menunjukkan variasi antar kelompok namun dengan kecenderungan serupa terhadap efek propolis. Kelompok

sehat (K1) memiliki kadar IL-6 relatif tinggi sebagai baseline fisiologis, sedangkan kelompok kontrol negatif (K2) yang dipapar *C. acnes* justru menunjukkan kadar IL-6 lebih rendah dibanding K1. Fenomena ini dapat disebabkan oleh variabilitas biologis pada mencit, serta adanya mekanisme kompensasi tubuh dalam menyeimbangkan respon inflamasi. Pada kelompok kontrol positif (K3), kadar IL-6 lebih tinggi dibanding K2, menunjukkan bahwa meski klindamisin efektif mengurangi jumlah bakteri, inflamasi tetap berlangsung dan tidak sepenuhnya ditekan.^{70,71}

Kelompok perlakuan propolis 1% (K4) memperlihatkan kadar IL-6 yang mendekati kelompok sehat, menandakan kemampuan propolis menekan inflamasi hingga menyerupai kondisi fisiologis normal. Namun, efek terbaik kembali ditunjukkan oleh kelompok propolis 2% (K5), yang memiliki kadar IL-6 terendah dibanding semua kelompok. Hal ini menegaskan bahwa propolis 2% mampu menurunkan sitokin proinflamasi lebih efektif dibanding dosis lebih rendah, melalui mekanisme hambatan jalur NF- κ B serta peningkatan pelepasan sitokin antiinflamasi seperti IL-10.^{68,74}

Adanya pasangan kelompok yang signifikan hanya pada salah satu biomarker, misalnya K1–K4 yang signifikan pada MMP-9 tetapi tidak pada IL-6, dapat dijelaskan oleh perbedaan sifat dan dinamika kedua marker. MMP-9, sebagai enzim proteolitik yang terlibat dalam degradasi matriks ekstraseluler, umumnya merespons lebih cepat terhadap intervensi topikal antiinflamasi. Sebaliknya, IL-6 merupakan sitokin proinflamasi dengan jalur regulasi yang lebih kompleks dan waktu penurunan yang cenderung lebih lambat. Perbedaan ini menunjukkan bahwa

respons terhadap perlakuan tidak hanya ditentukan oleh potensi agen yang diberikan, tetapi juga oleh karakteristik biologis target yang diukur serta kondisi inflamasi masing-masing kelompok.

Jika dibandingkan, MMP-9 dan IL-6 memiliki karakteristik respons yang berbeda. MMP-9 sebagai enzim proteolitik merespons lebih cepat terhadap inflamasi dan intervensi, sementara IL-6 sebagai sitokin proinflamasi memiliki regulasi yang lebih kompleks dan cenderung menurun lebih lambat. Meski demikian, hasil penelitian ini menunjukkan konsistensi bahwa propolis, terutama pada konsentrasi 2%, memberikan efek antiinflamasi yang paling besar terhadap kedua biomarker. Sementara klindamisin cenderung lebih menekan beban bakteri, propolis menunjukkan keunggulan dalam modulasi respon inflamasi lokal. Temuan ini memperkuat potensi propolis sebagai kandidat agen topikal antiinflamasi yang efektif untuk acne inflamasi, dengan mekanisme utama melalui hambatan jalur TLR–NF- κ B yang menekan produksi MMP-9 dan IL-6 sekaligus melindungi jaringan kulit dari kerusakan lebih lanjut.^{68,73}

Pada model *acne-like* menggunakan mencit jantan yang diinduksi bakteri *C. acnes* yang mensimulasikan lesi jerawat inflamasi, pemberian serum ekstrak propolis terbukti menekan respon inflamasi. Secara khusus, kelompok mencit yang diterapi dengan serum propolis 1% maupun 2% menunjukkan penurunan kadar IL-6 dan MMP-9 yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini mencerminkan kemampuan propolis mengintervensi jalur inflamasi yang dipicu infeksi bakteri. Secara molekuler, propolis pada konsentrasi ini diduga dapat menekan aktivasi NF- κ B di sel-sel target (misal sel imun kulit), sejalan dengan

aktivitas antiinflamasi CAPE dan flavonoid yang terkandung di dalamnya.^{68,73} Penurunan IL-6 berarti berkurangnya sinyal rekrutmen dan aktivasi neutrofil, sehingga peradangan kulit mereda. Penurunan MMP-9 mengindikasikan berkurangnya potensi kerusakan matriks dan jaringan kulit, hal ini penting karena kadar MMP-9 yang lebih rendah dapat mengurangi kerusakan folikel serta kemungkinan pembentukan pustula atau jaringan parut pasca *acne*.^{70,75} Temuan ini konsisten dengan laporan penelitian lain yang menyebut propolis efektif menurunkan mediator inflamasi. Misalnya, meta-analisis uji klinis menunjukkan suplementasi propolis secara signifikan menurunkan kadar IL-6 serum pada berbagai kondisi inflamasi.⁷⁶ Secara *in vivo* pada model luka kulit, aplikasi topikal propolis juga menurunkan ekspresi sitokin IL-6 dan enzim MMP-9 yang tadinya tinggi akibat peradangan, mendekati kadar normal jaringan sehat.⁷⁷

Selain efek langsung terhadap mediator inflamasi, perubahan berat badan (BB) mencit selama perlakuan juga dapat memengaruhi hasil penelitian. Analisis uji Kruskal–Wallis menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara berat badan sebelum dan sesudah perlakuan ($p=0,006$), yang mengindikasikan bahwa intervensi, baik berupa induksi *C. acnes* maupun pemberian propolis berdampak pada status fisiologis hewan uji. Perubahan berat badan telah dilaporkan berkaitan erat dengan regulasi imun dan metabolisme energi, di mana kondisi stres metabolik akibat penurunan berat badan dapat meningkatkan kerentanan terhadap inflamasi, sedangkan peningkatan berat badan tertentu dapat berhubungan dengan aktivasi mediator proinflamasi seperti IL-6. Dengan demikian, variasi berat badan mencit selama penelitian berpotensi menjadi faktor perancu terhadap kadar sitokin dan

enzim yang diukur, termasuk IL-6 dan MMP-9. Temuan ini sejalan dengan literatur yang menyebutkan bahwa status nutrisi dan perubahan BB dapat memodulasi respons imun, serta memengaruhi efektivitas agen antiinflamasi. Oleh karena itu, kontrol ketat terhadap berat badan dan parameter metabolik perlu dipertimbangkan pada penelitian lanjutan, untuk memastikan bahwa penurunan kadar IL-6 dan MMP-9 benar-benar merefleksikan efek antiinflamasi propolis, bukan semata akibat perubahan fisiologis umum.^{78,79}

Berdasarkan temuan bahwa serum ekstrak propolis pada konsentrasi 1% dan 2% berpengaruh terhadap penurunan kadar MMP-9 dan IL-6 pada model *acne-like*, penelitian lanjutan dengan desain jangka panjang, variasi konsentrasi yang lebih luas, serta analisis molekuler dan histopatologis yang komprehensif diperlukan untuk mengonfirmasi mekanisme kerja serta menilai potensi propolis sebagai kandidat terapi adjuvan yang aman dan efektif dalam manajemen inflamasi pada *acne vulgaris*. Keterbatasan penelitian ini antara lain adanya perubahan berat badan mencit yang signifikan ($p=0,006$) selama perlakuan, yang berpotensi menjadi faktor perancu terhadap kadar IL-6 dan MMP-9. Status metabolik dan fisiologis hewan uji dapat memengaruhi respons imun, sehingga sebagian perubahan mediator inflamasi mungkin tidak hanya disebabkan oleh efek propolis semata. Selain itu, penelitian ini belum melibatkan analisis histopatologis kulit maupun biomarker sistemik untuk menguatkan temuan molekuler, sehingga interpretasi hasil masih terbatas pada parameter sitokin dan enzim lokal. Oleh karena itu, penelitian lanjutan dengan kontrol lebih ketat terhadap faktor fisiologis serta desain analisis yang lebih

komprehensif diperlukan untuk memastikan validitas efek antiinflamasi propolis pada acne vulgaris.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Kadar IL-6 pada kelompok serum ekstrak propolis 2% lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol.
2. Kadar MMP-9 pada kelompok serum ekstrak propolis 2% lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol.
3. Kadar IL-6 dan MMP-9 pada kelompok serum ekstrak propolis 2% lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok serum ekstrak propolis 1%..

6.2 Saran

1. Penelitian lanjutan dengan durasi perlakuan yang lebih panjang dan variasi dosis yang lebih luas diperlukan untuk mengevaluasi efek serum ekstrak propolis secara lebih maksimal terhadap kadar MMP-9 dan IL-6, serta untuk memahami lebih dalam mengenai mekanisme kerjanya pada tingkat molekuler dan inflamasi.
2. Diperlukan analisis lebih lanjut terhadap parameter histologi kulit, seperti komposisi kolagen, serta kualitas jaringan granulasi dan pemulihan jaringan pada lesi jerawat pasca pemberian serum ekstrak propolis.
3. Penelitian dengan desain uji pre-test dan post-test disarankan untuk menilai perbedaan signifikan antara kelompok sebelum dan sesudah perlakuan serta

untuk mengidentifikasi faktor eksternal yang mempengaruhi hasil terapi, seperti faktor genetik atau kondisi lingkungan pada model mencit



DAFTAR PUSTAKA

1. 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 May 1;90(5):1006.e1-1006.e30.
2. Wattanuruk D, Matintarangson N. Antioxidant and Anti-acne Activities of Stingless Bee Honey and Propolis Extract [Internet]. Vol. 17, *Journal of Food Health and Bioenvironmental Science*. Available from: <http://jfhb.dusit.ac.th/>
3. Qonnayda U, Sutini T. Hubungan Akne Vulgaris dengan Citra Tubuh Remaja di Desa Lonam Kabupaten Sambas Kalimantan Barat. *Indonesian Journal of Nursing Science and Practice*. 2021;4(1):41–8.
4. Angelina Chesia, Tan Tansil Sukmawati. Perubahan Kualitas Hidup DLQI Sebelum Dan Sesudah Penggunaan Krim Racikan Anti Jerawat Klinik Sukma. *Health Information Jurnal Penelitian*. 2023;15:1–4.
5. Astiah AA, Sudarsono, Resliana. Hubungan Penggunaan Bb Cream (Blemish Balm Cream) Dengan Derajat Keparahan Akne Vulgaris Pada Siswi Sma Negeri 03 Batam Tahun 2023. *Zona Kedokteran*. 2024;14(3):224–33.
6. Widasari NPA, Arsyastuti AAS, Sunyamurthi, I Gde Nengah A. Hubungan Derajat Acne Vulgaris dengan Tingkat Ansietas pada Mahasiswa Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Warmadewa. *Aesculapius Medical Journal*. 2024;4(2):252–60.

7. Hamilton KD, Brooks PR, Ogbourne SM, Russell FD. Natural products isolated from *Tetragonula carbonaria* cerumen modulate free radical-scavenging and 5-lipoxygenase activities in vitro. *BMC Complement Altern Med*. 2017 Apr 26;17(1).
8. 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(2):1933.
9. Madelina W, Sulistiyaningsih. Review: Resistensi Antibiotik pada Terapi Pengobatan Jerawat. *Jurnal Farmaka*. 2018;16(2):105–17.
10. Barros KBNT, Neto EMR, Fonteles MM de F. Propolis and its Cosmetic Applications: A Technological Prospection. *Journal of Young Pharmacists*. 2019;11(4):350–2.
11. Hamilton KD, Brooks PR, Ogbourne SM, Russell FD. Natural products isolated from *Tetragonula carbonaria* cerumen modulate free radical-scavenging and 5-lipoxygenase activities in vitro. *BMC Complement Altern Med*. 2017;17(1):1–8.
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 Jul 1;24(14).
13. 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*. Vol. 18, Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences. 2022.
14. Mazzarello V, Donadu MG, 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. 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 Nov 1;13(11).
 16. Rimón A, Rakov C, Lerer V, Sheffer-Levi S, Oren SA, Shlomov T, et al. Topical phage therapy in a mouse model of *Cutibacterium acnes*-induced acne-like lesions. *Nat Commun*. 2023 Dec 1;14(1).
 17. Jang YH, Lee KC, Lee SJ, Kim DW, Lee WJ. HR-1 mice: A new inflammatory acne mouse model. *Ann Dermatol*. 2015 Jun 1;27(3):257–64.
 18. Zhou N, Sun Y, Ren X, Wang Y, Gao X, Li L, et al. Intradermal injection of *Cutibacterium acnes* and staphylococcus: A pustular acne-like murine model. *J Cosmet Dermatol*. 2024 Jul 1;23(7):2478–89.
 19. JATAV R, RAJ V, SIROHI B, LARIYA S. EVALUATION OF IN VIVO ANTI-ACNE ACTIVITY OF FLOWER EXTRACT OF WITHANIA COAGULANS. *Current Research in Pharmaceutical Sciences* [Internet]. 2024 Jan 8;13(4):172–8. Available from: <https://crpsonline.com/index.php/crps/article/view/366>

20. Fitriani I, Sari Lubis M, Yuniarti R, Putri Rahayu Y. PERBANDINGAN EFEKTIVITAS PRODUK TOPIKAL ANTI JERAWAT TERHADAP TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus novergicus*) SECARA IN VIVO COMPARISON OF THE EFFECTIVENESS OF ANTI ACNE TOPIC PRODUCTS ON WHITE RATS (*Rattus novergicus*) IN VIVO. Vol. 2, Agustus. 2022.
21. Hammam AM, Alhebawy NG, Mahmoud Hanafi SN. Matrix metalloproteinase-9 in the blood of acne patients: The possible use of matrix metalloproteinase-9 as a biomarker of acne severity. *Menoufia Med J*. 2021;
22. Kim IS, Yang WS, Kim CH. Physiological Properties, Functions, and Trends in the Matrix Metalloproteinase Inhibitors in Inflammation-Mediated Human Diseases. *Curr Med Chem*. 2023;30(18):2075–112.
23. Mondal S, Adhikari N, Banerjee S, Amin SA, Jha T. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and its inhibitors in cancer: A minireview. *Eur J Med Chem*. 2020 May;194:112260.
24. Fernández J, Jiménez C, Benadof D, Morales P, Astorga J, Cáceres F, et al. MMP-9 Levels in the Gingival Crevicular Fluid of Chilean Rosacea Patients. *Int J Mol Sci*. 2022;23(17).
25. Al-Roub A, Akhter N, Al-Rashed F, Wilson A, Alzaid F, Al-Mulla F, et al. TNF α induces matrix metalloproteinase-9 expression in monocytic cells through ACSL1/JNK/ERK/NF- κ B signaling pathways. *Sci Rep*. 2023;13(1):1–11.

26. Zhang H, Liu L, Jiang C, Pan K, Deng J, Wan C. MMP9 protects against LPS-induced inflammation in osteoblasts. *Innate Immun.* 2020 May;26(4):259–69.
27. Hammam MA, Alhelbawy NG, Mahmoud SNH. Matrix metalloproteinase-9 in the blood of acne patients: The possible use of matrix metalloproteinase-9 as a biomarker of acne severity. *Menoufia Medical Journal.* 2020;33.
28. Ma X, Guo J, Bouffard F, Feng N, Zhang SY. Therapeutic Mechanisms of α - / β -Hydroxy Acid Complex on Skin Sebum Balance and Acne via Network Pharmacology. 2022;7(2):25–34.
29. Biju AK, B N, Shanmugam R. A Thorough Examination of *Peltophorum pterocarpum* Phytochemicals in Network Pharmacology-Based Management of Acne Vulgaris. *Cureus.* 2024 Aug;16(8):e68159.
30. Triatmakusuma Y, Praharsini IGAA, Darmaputra IGN, Winaya KK, Karna NLPRV, Puspawati NMD. Serum Interleukin-6 Levels are Positively Correlated with the Severity of Acne Vulgaris. *Journal La Medihealtico.* 2024;5(1):158–66.
31. Wiesel V, Weissmann S, Cohen B, Golan-Tripto I, Horev A. Elevated hematologic ratios are correlated with acne severity: a national, retrospective cohort study. *Front Med (Lausanne).* 2024;11(October):1–7.
32. Li M, Gao X, Miao T, Sun H. Identification of biomarkers of acne based on transcriptome analysis and combined with network pharmacology to explore the therapeutic mechanism of Jinhuang ointment. *Medicine (United States).* 2023;102(44):E35642.

33. Amita HS, Masood S, Haitham MS, Schlessinger J. Acne Vulgaris. In: NCBI Bookshelf: Startpearls. 2023.
34. Eichenfield DZ, Sprague J, Eichenfield LF. Management of Acne Vulgaris: A Review. JAMA. 2021 Nov 23;326(20):2055–67.
35. Motosko CC, Zakhem GA, Pomeranz MK, Hazen A. Acne: a side-effect of masculinizing hormonal therapy in transgender patients. Br J Dermatol. 2019 Jan;180(1):26–30.
36. 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 Sep;81(3):723–9.
37. Maulida Y, Topik MM. Penanganan Acne Vulgaris Terkini. Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan dan Kedokteran. 2024;2(3):98–111.
38. Astrid Teresa. Akne Vulgaris Dewasa : Etiologi, Patogenesis Dan Tatalaksana Terkini. Jurnal Kedokteran Universitas Palangka Raya. 2020;8(1):952–64.
39. 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(5):1006.e1-1006.e30.
40. Buku Akne Vulgaris.
41. 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(3):210–6.

42. 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(1):19.
43. Yenny SW. Antibiotic Resistaince in Acne Vulgaris. *Dermatovenereology Department of dr M Djamil Hospital Padang, West Sumatera, Indonesia*. 2019;1–25.
44. 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.
45. Bagatin E, Florez-White M, Arias-Gomez MI, Kaminsky A. Algorithm for acne treatment: Ibero-Latin American consensus. *An Bras Dermatol*. 2017 Oct;92(5):689–93.
46. Pandey M, Awasthi S, Baranwal S. IL-6: An endogenous activator of MMP-9 in preterm birth. *J Reprod Immunol*. 2020 Sep;141:103147.
47. Omar J, Shafii N, Zainan AE, Sirajudeen K, Abdullah MR. Evaluation of wound healing biomarkers of Interleukin 6 (IL-6), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Matrix Metalloproteinases 9 (MMP-9) in post Lower Segment Caesarean Section (LSCS) patients consuming Channa Striatus extract. *Bangladesh Journal of Medical Science*. 2020 Mar 10;19(3):520–6.

48. Akbari T, Kazemi Fard T, Fadaei R, Rostami R, Moradi N, Movahedi M, et al. Evaluation of MMP-9, IL-6, TNF- α levels and peripheral blood mononuclear cells genes expression of MMP-9 and TIMP-1 in Iranian patients with coronary artery disease. *J Cardiovasc Thorac Res*. 2023 Dec 30;15(4):223–30.
49. 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 Aug;17(1):100.
50. Matuszewska E, Klupeczynska A, Maciołek K, Kokot ZJ, Matysiak J. Multielemental Analysis of Bee Pollen, Propolis, and Royal Jelly Collected in West-Central Poland. *Molecules*. 2021 Apr;26(9).
51. 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 Sep;10(1):15560.
52. 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 Nov;26(7):1695–703.
53. Przybyłek I, Karpiński TM. Antibacterial Properties of Propolis. *Molecules*. 2019 May;24(11).
54. Seibert JB, Bautista-Silva JP, Amparo TR, Petit A, Pervier P, Dos Santos Almeida JC, et al. Development of propolis nanoemulsion with antioxidant

- and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. *Food Chem.* 2019 Jul;287:61–7.
55. 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 Jun;238:111867.
 56. 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 Dec;27(23).
 57. 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 Apr 1;234(4):4081–94.
 58. 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(2):280–8.
 59. 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 Mar;73(2):135–44.
 60. Martin BA, Lemos CN, Dalmolin LF, Arruda C, Brait ÍSC, Cazarim M de S, et al. A New Approach to Atopic Dermatitis Control with Low-

Concentration Propolis-Loaded Cold Cream. *Pharmaceutics*. 2021 Aug;13(9).

61. Conte FL, Pereira AC, Brites G, Ferreira I, Silva AC, Sebastião AI, et al. Exploring the antioxidant, anti-inflammatory and antiallergic potential of Brazilian propolis in monocytes. *Phytomedicine Plus*. 2022;2(2):100231.
62. 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(2):101314.
63. Oliveira LPG, Conte FL, de Oliveira Cardoso E, Conti BJ, Santiago KB, de Assis Golim M, et al. A new chemotherapeutic approach using doxorubicin simultaneously with geopropolis favoring monocyte functions. *Life Sci*. 2019 Jan;217:81–90.
64. Jalali M, Ranjbar T, Mosallanezhad Z, Mahmoodi M, Moosavian SP, Ferns GA, et al. Effect of Propolis Intake on Serum C-Reactive Protein (CRP) and Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α) Levels in Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials. *Complement Ther Med*. 2020 May;50:102380.
65. Zullkiflee N, Taha H, Usman A. Propolis: Its Role and Efficacy in Human Health and Diseases. *Molecules*. 2022 Sep 19;27(18):6120.
66. Zuhendri F, Lesmana R, Tandean S, Christoper A, Chandrasekaran K, Irsyam I, et al. Recent Update on the Anti-Inflammatory Activities of Propolis. *Molecules*. 2022 Dec 2;27(23):8473.

67. 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 Dec 10;13(2):126–34.
68. 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 Dec 1;27(23).
69. Huang L, Yang S, Yu X, Fang F, Zhu L, Wang L, et al. Association of different cell types and inflammation in early acne vulgaris. Vol. 15, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media SA; 2024.
70. Lesiak A, Paprocka P, Wnorowska U, Mańkowska A, Król G, Głuszek K, et al. Significance of host antimicrobial peptides in the pathogenesis and treatment of acne vulgaris. Vol. 15, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media SA; 2024.
71. 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 Dec;3(1).
72. Martinotti S, Bonsignore G, Ranzato E. Propolis: A Natural Substance with Multifaceted Properties and Activities. Vol. 26, *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2025.

73. 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.
74. Bahari H, Shahraki Jazinaki M, Aliakbarian M, Rashidmayvan M, Golafrouz H, Rahnema I, et al. Propolis supplementation on inflammatory and oxidative stress biomarkers in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Vol. 12, *Frontiers in Nutrition*. Frontiers Media SA; 2025.
75. 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 α , IL-1 β , IL-1Ra, IL-6, IL-8, IL-12 and RANTES) in Mustard Gas-Exposed Patients: Sardasht-Iran Cohort Study. *Arch Iran Med*. 2017;20(2):86–91.
76. Gholami A, Dinarvand N, Hariri M. Propolis supplementation can reduce serum level of interleukin-6, C-reactive protein, and tumor necrosis factor- α : an updated systematic review and dose-response meta-analysis on randomized clinical trials. Vol. 43, *Journal of Health, Population and Nutrition*. BioMed Central Ltd; 2024.
77. Hozzein WN, Badr G, Al Ghamdi AA, Sayed A, Al-Waili NS, Garraud O. Topical application of propolis enhances cutaneous wound healing by promoting TGF-beta/smad-mediated collagen production in a streptozotocin-induced type I diabetic mouse model. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2015;37(3):940–54.

78. 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>
79. 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.

