

**PENGARUH PEMBERIAN GEL KOMBINASI  
EKSTRAK PROPOLIS DAN DEXPANTHENOL  
TERHADAP KADAR *TUMOR NECROSIS FACTOR-  
ALPHA* (TNF- $\alpha$ ) DAN *GLUTATHIONE PEROXIDASE*  
(GPx)**

**(Studi Eksperimental terhadap Tikus Jantan Wistar dengan  
Model Luka Bakar Derajat II)**

**TESIS**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



**Magister Ilmu Biomedik**

**Yulydwita Adiningtyas**

**MBK.24.24.010495**

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

## HALAMAN PENGESAHAN

### TESIS

# PENGARUH PEMBERIAN GEL KOMBINASI EKSTRAK PROPOLIS DAN DEXPANTHENOL TERHADAP KADAR TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF- $\alpha$ ) DAN GLUTATHIONE PEROXIDASE (GPx)

(Studi Eksperimental terhadap Tikus Jantan Wistar dengan Model  
Luka Bakar Derajat II)

Disusun oleh:  
**Yulydwita Adiningtyas**  
**MBK.24.24.010495**

Akan dipertahankan di depan Tim Penguji Pada 03 Februari 2026 dan  
dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

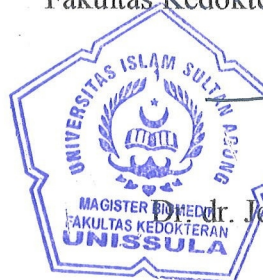
Pembimbing II

  
Dr. dr. Danis Pertiwi, M.Si.Med, Sp.PK  
NIK. 210199051

  
Dr. dr. Setyo Trisnadi, SH., Sp.KF  
NIK. 210199049

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedis  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



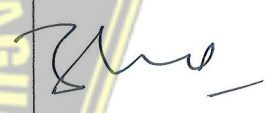
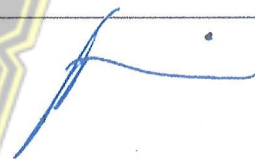
  
Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes  
NIK. 210198046

## LEMBAR PENGESAHAN DEWAN PENGUJI

Laporan Tesis Dengan Judul “PENGARUH PEMBERIAN GEL KOMBINASI EKSTRAK PROPOLIS DAN DEXPANTHENOL TERHADAP KADAR TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF- $\alpha$ ) DAN GLUTATHIONE PEROXIDASE (GPx) (Studi Eksperimental terhadap Tikus Jantan Wistar dengan Model Luka Bakar Derajat II)” ini telah dipertahankan di depan Penguji Sidang Akhir pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 03 Februari 2026

| NO. | NAMA                                             | JABATAN       | TANDA TANGAN                                                                          |
|-----|--------------------------------------------------|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.  | Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B,<br>FINACS            | Penguji I     |  |
| 2.  | Prof. Dr. Dra. Hj. Atina<br>Hussaana, M.si., Apt | Penguji II    |  |
| 3.  | Dr.dr. Chodidjah, M.Kes.<br>PAK (K)              | Penguji III   |  |
| 4.  | Dr. dr. Danis Pertiwi,<br>M.Si.Med., Sp.PK       | Pembimbing I  |  |
| 5.  | Dr. dr. H. Setyo Trisnadi,<br>S.H., Sp.F(K)      | Pembimbing II |  |

## 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, 03 Februari 2026

SEPULOH RIBU RUPIAH  
10000  
TOL 20  
METEOR  
TELESEL  
D8DA7AJX674738171  
Yulydwita Adiningtyas



## RIWAYAT HIDUP

### A. Indentitas

Nama : Yulydwita Adiningtyas  
Tempat/ Tanggal Lahir : Tangerang, 12 Juli 1988  
Agama : Islam  
Jenis Kelamin : Perempuan

### B. Riwayat Pendidikan

1. SDN Ciputat 1 : Lulus tahun 2000  
2. SLTPN 2 Ciputat : Lulus tahun 2003  
3. SMAN 2 Ciputat : Lulus tahun 2006  
4. S1 Fakultas Kedokteran UPNVJ : Lulus tahun 2010  
5. Profesi Dokter UPNVJ : Lulus tahun 2013  
6. Magister Ilmu Biomedis FK Unissula : 2024 – sekarang

### C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : dr. M. David Fauzi  
2. Nama Anak : Naira Felicya Gayatri  
Najuwa Froska Gayatri

## KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul: **PENGARUH PEMBERIAN GEL KOMBINASI EKSTRAK PROPOLIS DAN DEXPANTHENOL TERHADAP KADAR TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF- $\alpha$ ) DAN GLUTATHIONE PEROXIDASE (GPx) (Studi Eksperimental terhadap Tikus Jantan Wistar dengan Model Luka Bakar Derajat II).**

Dalam proses penyusunan tesis ini, penulis mendapatkan arahan, dukungan, serta bimbingan. Oleh karena itu, penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat:

1. Prof. Dr. H. Gunarto, S.H., M.Hum. selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung beserta para wakil rektor yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan Pendidikan Magister Ilmu Biomedik.
2. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp. B, FINACS selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung dan pembimbing II yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan Program Magister Ilmu Biomedik, dan telah memberikan waktu, saran dan dorongan serta semangat dalam penyusunan tesis ini.
3. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan Program Magister Ilmu Biomedik.

4. Dr. dr. Danis Pertiwi, M, Si., Sp. PK. Selaku pembimbing I yang telah memberikan waktu, saran dan dorongan, serta semangat dalam penyusunan tesis ini.
5. Dr.dr.H Setyo Trisnadi, S.H., Sp.F (K) Selaku pembimbing II yang telah memberikan waktu, saran dan dorongan, serta semangat dalam penyusunan tesis ini.
6. Seluruh Dosen Pengajar dan seluruh Staff Prodi Magister Ilmu Biomedik, Laboratorium IBL UNISSULA yang mendukung penyusunan tesis ini.
7. Kedua orang tua, suami dr. M David Fauzi, serta kedua anak penyusun Naira Felicya Gayatri dan Najuwa Froska Gayatri yang selalu mendukung dan memberikan doa sehingga tesis ini dapat terselesaikan.
8. Seluruh pihak yang terlibat dalam penyusunan tesis ini yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa manusia tak luput dari kekhilafan dan keterbatasan. Dengan segala kekurangan yang mungkin terdapat dalam tesis ini, penulis tetap berharap karya ini dapat memberikan manfaat bagi penulis sendiri, Program Studi Magister Ilmu Biomedik FK UNISSULA, serta seluruh pihak yang berkepentingan. Akhir kata, semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan rahmatNya kepada kita semua. Aamiin.

Semarang, 03 Februari 2026



Yulydwita Adiningtyas

## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Ekstrak propolis memiliki aktifitas inflamasi dan anti oksidan. Dexpanthenol berpotensi meregenerasi jaringan sehingga dapat mempengaruhi kadar TNF- $\alpha$  dan GPx. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan GPx pada jaringan kulit luka bakar derajat II.

**Metode:** Penelitian eksperimental dengan desain *post-test only control group* menggunakan subjek 35 ekor tikus Wistar jantan yang dibagi menjadi 7 kelompok: K1(kontrol sehat). K2, K3, K4, K5, K6, K7 di induksi luka bakar derajat II. K3, K4, K5, K6, K7 masing-masing diberi perlakuan selama 7 hari. K3 (silver sulfadiazine 1%), K4 (ekstrak propolis 10%), K5 (dexpanthenol 5%), K6 (kombinasi ekstrak propolis 5% + dexpanthenol 2,5%) dan K7 (ekstrak propolis 10% + dexpanthenol 5%). Kadar TNF- $\alpha$  dan GPx jaringan kulit diukur menggunakan metode ELISA. Data diuji menggunakan *Levene test* dan *Shapiro Wilk*. Selanjutnya data kadar TNF- $\alpha$  diuji menggunakan *One Way Anova* dan *Post Hoc Tukey*. Data kadar GPx diuji dengan Welch Anova dan Post Hoc Tamhane.

**Hasil:** Rerata  $\pm$  SD kadar TNF- $\alpha$  (ng/L) pada K6 dan K7 berturut-turut  $237,48 \pm 11,49$  dan  $237,40 \pm 6,71$  dan tidak berbeda bermakna dengan K2 ( $p>0,05$ ). Rerata  $\pm$  SD kadar GPx (ng/L) pada K6 dan K7 berturut-turut  $1545,92 \pm 137,50$  ng/mL dan  $1483,42 \pm 251,09$  ng/mL. dan tidak berbeda bermakna dengan K2 ( $p>0,05$ ).

**Kesimpulan:** Pemberian gel kombinasi gel ekstrak propolis dan dexpanthenol tidak berpengaruh terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan GPx pada luka bakar derajat II tikus Wistar jantan.

**Kata Kunci:** dexpanthenol, GPx, luka bakar derajat II, propolis, TNF- $\alpha$ .

## ABSTRACT

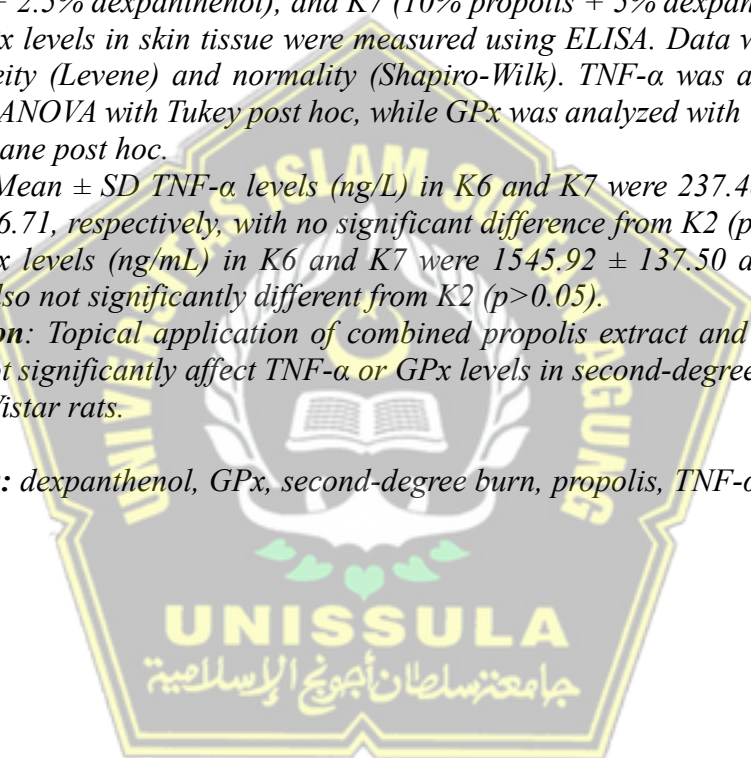
**Background:** Propolis extract has anti-inflammatory and antioxidant properties, while dexpanthenol can promote tissue regeneration, potentially affecting TNF- $\alpha$  and GPx levels. This study aimed to evaluate the effect of a combined propolis extract and dexpanthenol gel on TNF- $\alpha$  and GPx levels in second-degree burn wounds.

**Methods:** This experimental study used a post-test only control group design with 35 male Wistar rats divided into seven groups: K1 (healthy control), K2–K7 (second-degree burn induction). Groups K3–K7 received treatments for 7 days: K3 (1% silver sulfadiazine), K4 (10% propolis extract), K5 (5% dexpanthenol), K6 (5% propolis + 2.5% dexpanthenol), and K7 (10% propolis + 5% dexpanthenol). TNF- $\alpha$  and GPx levels in skin tissue were measured using ELISA. Data were tested for homogeneity (Levene) and normality (Shapiro-Wilk). TNF- $\alpha$  was analyzed using One-Way ANOVA with Tukey post hoc, while GPx was analyzed with Welch ANOVA and Tamhane post hoc.

**Results:** Mean  $\pm$  SD TNF- $\alpha$  levels (ng/L) in K6 and K7 were  $237.48 \pm 11.49$  and  $237.40 \pm 6.71$ , respectively, with no significant difference from K2 ( $p > 0.05$ ). Mean  $\pm$  SD GPx levels (ng/mL) in K6 and K7 were  $1545.92 \pm 137.50$  and  $1483.42 \pm 251.09$ , also not significantly different from K2 ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** Topical application of combined propolis extract and dexpanthenol gel did not significantly affect TNF- $\alpha$  or GPx levels in second-degree burn wounds in male Wistar rats.

**Keywords:** dexpanthenol, GPx, second-degree burn, propolis, TNF- $\alpha$ .



## DAFTAR ISI

|                                                                  |      |
|------------------------------------------------------------------|------|
| HALAMAN JUDUL .....                                              | i    |
| HALAMAN PENGESAHAN .....                                         | ii   |
| PERNYATAAN .....                                                 | iii  |
| RIWAYAT HIDUP .....                                              | iv   |
| KATA PENGANTAR .....                                             | v    |
| ABSTRAK .....                                                    | vii  |
| ABSTRACT .....                                                   | viii |
| DAFTAR ISI .....                                                 | ix   |
| DAFTAR SINGKATAN .....                                           | xii  |
| DAFTAR TABEL .....                                               | xiv  |
| DAFTAR GAMBAR .....                                              | xv   |
| DAFTAR LAMPIRAN .....                                            | xvi  |
| BAB I PENDAHULUAN .....                                          | 1    |
| 1.1. Latar Belakang .....                                        | 1    |
| 1.2. Rumusan Masalah .....                                       | 4    |
| 1.3. Tujuan Penelitian .....                                     | 4    |
| 1.3.1. Tujuan Umum .....                                         | 4    |
| 1.3.2. Tujuan Khusus .....                                       | 4    |
| 1.4. Manfaat Penelitian .....                                    | 5    |
| 1.4.1. Manfaat Teoretis .....                                    | 5    |
| 1.4.2. Manfaat Praktis .....                                     | 5    |
| 1.5. Originalitas Penelitian .....                               | 6    |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....                                    | 9    |
| 2.1. <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i> (TNF- $\alpha$ ) .....   | 9    |
| 2.1.1. Pengertian .....                                          | 9    |
| 2.1.2. Aktivasi TNF- $\alpha$ .....                              | 9    |
| 2.1.3. Mekanisme Kerja TNF- $\alpha$ .....                       | 10   |
| 2.1.4. Peran TNF- $\alpha$ pada Luka Bakar .....                 | 12   |
| 2.2. <i>Glutathione Peroxidase</i> (GPx) .....                   | 12   |
| 2.2.1. Definisi .....                                            | 12   |
| 2.2.2. Persinyalan Nrf2 dalam Regulasi Transkripsi GPx .....     | 13   |
| 2.2.3. Mekanisme Kerja GPx .....                                 | 14   |
| 2.2.4. Peran GPx pada Luka Bakar .....                           | 15   |
| 2.3. Propolis .....                                              | 16   |
| 2.3.1. Definisi .....                                            | 16   |
| 2.3.2. Propolis dalam Penyembuhan Luka .....                     | 16   |
| 2.4. Dexpanthenol .....                                          | 19   |
| 2.4.1. Definisi .....                                            | 19   |
| 2.4.2. Peran Dexpanthenol pada Penyembuhan Luka .....            | 19   |
| 2.5. Mekanisme Kombinasi Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol ..... | 20   |
| 2.6. Silver Sulfadiazine .....                                   | 22   |
| 2.7. Luka Bakar .....                                            | 23   |
| 2.7.1. Pengertian dan Klasifikasi .....                          | 23   |
| 2.7.2. Patomekanisme Luka Bakar .....                            | 25   |

|                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.7.3. Patomekanisme Molekular Penyembuhan Luka Bakar .....                        | 28 |
| 2.8. Sediaan Gel.....                                                              | 30 |
| 2.9. Model Hewan Uji.....                                                          | 31 |
| 2.10. Induksi Luka Bakar dengan Logam Panas .....                                  | 32 |
| BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS .....                           | 34 |
| 3.1. Kerangka Teori .....                                                          | 34 |
| 3.2. Kerangka Konsep .....                                                         | 38 |
| 3.3. Hipotesis Penelitian.....                                                     | 38 |
| BAB IV METODE PENELITIAN .....                                                     | 39 |
| 4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian .....                               | 39 |
| 4.2. Populasi dan Sampel Penelitian .....                                          | 41 |
| 4.2.1. Populasi Subjek Penelitian .....                                            | 41 |
| 4.2.2. Sampel Penelitian.....                                                      | 41 |
| 4.2.3. Teknik Pengambilan Sampel .....                                             | 43 |
| 4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional .....                            | 43 |
| 4.3.1. Variabel Bebas.....                                                         | 43 |
| 4.3.2. Variabel Terikat.....                                                       | 43 |
| 4.3.3. Definisi Operasional .....                                                  | 44 |
| 4.4. Alat dan Bahan Penelitian .....                                               | 45 |
| 4.4.1. Alat.....                                                                   | 45 |
| 4.4.2. Bahan .....                                                                 | 47 |
| 4.5. Prosedur Penelitian dan Alur Kerja .....                                      | 48 |
| 4.5.1. Perolehan <i>Ethical Clearance</i> .....                                    | 48 |
| 4.5.2. Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol .....                                     | 48 |
| 4.5.3. Metode Ekstraksi Propolis.....                                              | 48 |
| 4.5.4. Penetapan Dosis .....                                                       | 49 |
| 4.5.5. Formulasi Gel .....                                                         | 50 |
| 4.5.6. Prosedur Pembuatan Gel Kombinasi Ekstrak Propolis dan<br>Dexpanthenol ..... | 51 |
| 4.5.7. Persiapan Sebelum Perlakuan.....                                            | 53 |
| 4.5.8. Induksi Luka Bakar Derajat II .....                                         | 53 |
| 4.5.9. Pemberian Perlakuan.....                                                    | 55 |
| 4.5.10. Pengambilan Sampel Jaringan Kulit Tikus.....                               | 55 |
| 4.5.11. Pemeriksaan kadar TNF- $\alpha$ dan GPx menggunakan ELISA .....            | 56 |
| 4.6. Alur Penelitian .....                                                         | 58 |
| 4.7. Tempat dan Waktu Penelitian.....                                              | 59 |
| 4.8. Analisis Data.....                                                            | 59 |
| BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....                                                    | 60 |
| 5.1. Hasil Penelitian .....                                                        | 60 |
| 5.1.1. Penelitian Pendahuluan Induksi Luka Bakar pada Tikus .....                  | 61 |
| 5.1.2. Validasi Makroskopis Model Luka Bakar Derajat II .....                      | 64 |
| 5.1.3. Hasil Pemeriksaan Kadar TNF- $\alpha$ pada Jaringan Kulit .....             | 67 |
| 5.1.4. Hasil Pemeriksaan Kadar GPx pada Jaringan Kulit .....                       | 71 |
| 5.2. Pembahasan .....                                                              | 75 |
| BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN .....                                                  | 88 |
| 6.1. Kesimpulan.....                                                               | 88 |
| 6.2. Saran.....                                                                    | 89 |
| DAFTAR PUSTAKA .....                                                               | 90 |

|                |    |
|----------------|----|
| LAMPIRAN ..... | 96 |
|----------------|----|



## DAFTAR SINGKATAN

|                |                                                      |
|----------------|------------------------------------------------------|
| AGEs           | : <i>Advanced Glycation End Products</i>             |
| CAPE           | : <i>Caffeic Acid Phenethyl Ester</i>                |
| CCL4           | : <i>Tetrachloromethane</i>                          |
| cIAP           | : <i>Cellular Inhibitor of Apoptosis Protein</i>     |
| COA            | : <i>Certificate of Analysis</i>                     |
| CXCL           | : <i>C-X-C motif Chemokine Ligand</i>                |
| DAMP           | : <i>Damage-Associated Molecular Patterns</i>        |
| DALY           | : <i>Disability-Adjusted Life Years</i>              |
| ECM            | : <i>Extracellular Matrix</i>                        |
| EGF            | : <i>Epidermal Growth Factor</i>                     |
| ELISA          | : <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>           |
| GPx            | : <i>Glutathione peroxidase</i>                      |
| GSH            | : <i>Glutathione</i>                                 |
| GST            | : <i>Glutathione S-transferase</i>                   |
| GSSG           | : <i>Glutathione Disulfide</i>                       |
| HGF            | : <i>Hepatocyte Growth Factor</i>                    |
| HIF-1 $\alpha$ | : <i>Hypoxia-Inducible Factor-1 Alpha</i>            |
| HMGB1          | : <i>High Mobility Group Box 1</i>                   |
| HO-1           | : <i>Heme Oxygenase-1</i>                            |
| Hs-CRP         | : <i>High-Sensitivity C-Reactive Protein</i>         |
| IFN            | : <i>Interferon</i>                                  |
| IGF            | : <i>Insulin-like Growth Factor</i>                  |
| IL             | : <i>Interleukin</i>                                 |
| iNOS           | : <i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i>             |
| iRhom          | : <i>Inactive Rhomboid protein</i>                   |
| Keap1          | : <i>Kelch Like ECH Associated Protein-1</i>         |
| LPS            | : <i>Lipopolisakarida</i>                            |
| MAPK           | : <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>            |
| MCP-1          | : <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>          |
| MDA            | : <i>Malondialdehyde</i>                             |
| MLKL           | : <i>mixed lineage kinase domain-like</i>            |
| MMP            | : <i>Matrix Metalloproteinase</i>                    |
| MPO            | : <i>Myeloperoxidase</i>                             |
| MRSA           | : <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i> |

|                 |                                                                  |
|-----------------|------------------------------------------------------------------|
| NADPH           | : Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate                    |
| nNOS            | : Neuronal Nitric Oxide Synthase                                 |
| NQO1            | : NAD(P)H Quinone Dehydrogenase-1                                |
| NF- $\kappa$ B  | : Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of Activated B cells |
| NLRP3           | : NOD-like Receptor Protein 3                                    |
| Nrf2            | : Nuclear Factor Erythroid-2 Related Factor 2                    |
| NO              | : Nitric Oxide                                                   |
| PAMP            | : Pathogen-Associated Molecular Patterns                         |
| PDGF            | : Platelet-Derived Growth Factor                                 |
| PGE2            | : Prostaglandin E2                                               |
| PI3K/AKT        | : Phosphoinositide 3-Kinase/Protein Kinase B (Akt) Pathway       |
| PRR             | : Pattern Recognition Receptor                                   |
| qPCR            | : Quantitative Polymerase Chain Reaction                         |
| ROS             | : Reactive Oxygen Species                                        |
| RIPK3           | : Receptor-interacting protein kinase-3                          |
| SASP            | : Senescence-Associated Secretory Phenotype                      |
| SMAD            | : Suppressor of Mothers Against Decapentaplegic Homolog          |
| SOD             | : Superoxide Dismutase                                           |
| sTNF- $\alpha$  | : Soluble Tumor Necrosis Factor-alpha                            |
| TACE            | : Tumor Necrosis Factor-alpha Converting Enzyme                  |
| TGF- $\beta$    | : Transforming Growth Factor-Beta                                |
| TIMP            | : Tissue Inhibitor of Metalloproteinase                          |
| TLR             | : Toll-like Receptor                                             |
| tmTNF- $\alpha$ | : Transmembrane Tumor Necrosis Factor-alpha                      |
| TNF             | : Tumor Necrosis Factor                                          |
| TNFR            | : Tumor Necrosis Factor Receptor                                 |
| TRAF            | : TNF Receptor-Associated Factor                                 |
| VEGF            | : Vascular Endothelial Growth Factor                             |
| YLL             | : Years of Life Lost                                             |

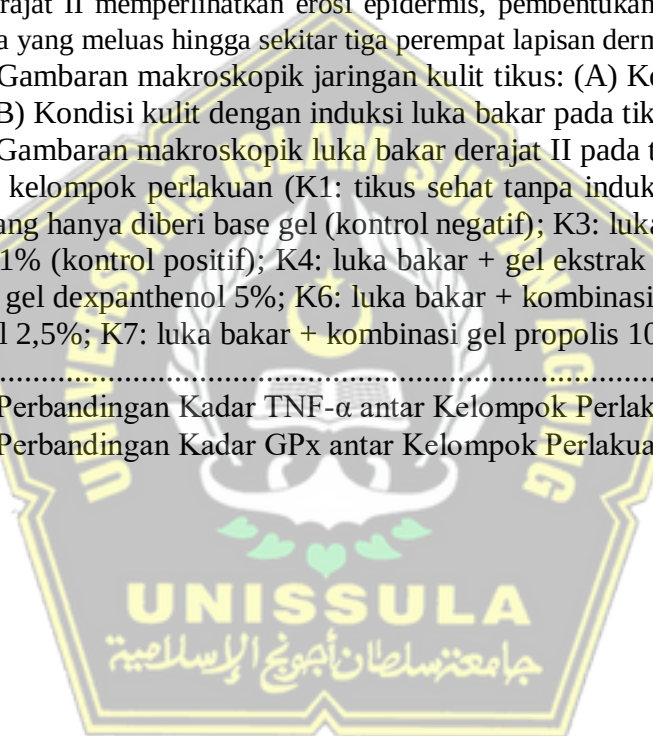
## DAFTAR TABEL

|                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.....                                                                   | 6  |
| Tabel 4.1 Formulasi Gel Kombinasi Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol.....                                 | 50 |
| Tabel 5.1 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar TNF- $\alpha$ dan Uji <i>One-Way ANOVA</i> .....                | 68 |
| Tabel 5.2 Hasil Uji <i>Post Hoc Tukey</i> setelah Perlakuan terhadap rata-rata kadar TNF- $\alpha$ ..... | 70 |
| Tabel 5.3 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar GPx dan Uji <i>One-Way ANOVA</i> .....                          | 71 |
| Tabel 5.4 Hasil Uji <i>Post Hoc Tamhane</i> setelah Perlakuan terhadap rata-rata kadar GPx .....         | 74 |



## DAFTAR GAMBAR

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar 2.1 Mekanisme Kerja TNF- $\alpha$ .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 11 |
| Gambar 2.2 Mekanisme Kerja Kombinasi Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol ..                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 21 |
| Gambar 3.1 Kerangka Teori .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 37 |
| Gambar 3.2 Kerangka Konsep .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 38 |
| Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 39 |
| Gambar 4.2 Alur Penelitian.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 59 |
| Gambar 5.1 Gambaran histopatologis jaringan kulit punggung tikus (pewarnaan Hematoksilin–Eosin). (A) Kulit tikus tanpa induksi luka bakar menunjukkan epidermis dan dermis dalam kondisi normal dengan struktur jaringan yang utuh; (B) Kulit tikus dengan luka bakar derajat II memperlihatkan erosi epidermis, pembentukan bula subepidermal, serta jejas luka yang meluas hingga sekitar tiga perempat lapisan dermis .....                                                                            | 61 |
| Gambar 5.2 Gambaran makroskopik jaringan kulit tikus: (A) Kondisi kulit normal pada tikus; (B) Kondisi kulit dengan induksi luka bakar pada tikus .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 63 |
| Gambar 5.3 Gambaran makroskopik luka bakar derajat II pada tikus pada Hari ke-7 (H7) antar kelompok perlakuan (K1: tikus sehat tanpa induksi luka bakar; K2: luka bakar yang hanya diberi base gel (kontrol negatif); K3: luka bakar + gel silver sulfadiazine 1% (kontrol positif); K4: luka bakar + gel ekstrak propolis 10%. K5: luka bakar + gel dexpanthenol 5%; K6: luka bakar + kombinasi gel propolis 5% + dexpanthenol 2,5%; K7: luka bakar + kombinasi gel propolis 10% + dexpanthenol 5%)..... | 65 |
| Gambar 5.4 Perbandingan Kadar TNF- $\alpha$ antar Kelompok Perlakuan .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 70 |
| Gambar 5.5 Perbandingan Kadar GPx antar Kelompok Perlakuan.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 74 |



## DAFTAR LAMPIRAN

|                                                                            |     |
|----------------------------------------------------------------------------|-----|
| Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i> .....                                 | 96  |
| Lampiran 2. Surat Keterangan Hewan .....                                   | 97  |
| Lampiran 3. Surat Keterangan Spesifikasi Hewan Uji .....                   | 98  |
| Lampiran 4. Sertifikat Propolis dan Dexpanthenol.....                      | 99  |
| Lampiran 5. Alat dan Bahan yang Digunakan untuk Perlakuan Tikus.....       | 102 |
| Lampiran 6. Surat Keterangan Hasil Penelitian Pendahuluan .....            | 103 |
| Lampiran 7. Proses Induksi Luka Bakar Derajat II .....                     | 107 |
| Lampiran 8. Surat Keterangan Hasil ELISA Jaringan TNF- $\alpha$ dan GPx... | 109 |
| Lampiran 9. Hasil SPSS .....                                               | 110 |



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Luka bakar derajat II merupakan cedera kulit yang ditandai oleh kerusakan epidermis hingga sebagian dermis sehingga dapat mengaktivasi respon inflamasi dan stres oksidatif yang berperan penting dalam penyembuhan jaringan.<sup>1</sup> Luka bakar menjadi beban kesehatan global dengan Asia Tenggara dan Asia Selatan menyumbang 30-40% kasus, kematian, dan *Disability-Adjusted Life Years* (DALY) pada tahun 2019.<sup>2</sup> Setelah terjadinya luka bakar, kadar *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) meningkat secara signifikan, menyebabkan aktivasi keratinosit dan makrofag serta pelepasan *reactive oxygen species* (ROS) dan mediator inflamasi.<sup>3</sup> Sementara itu, aktivitas enzim antioksidan *Glutathione peroxidase* (GPx) menurun, menghambat detoksifikasi radikal bebas.<sup>4</sup> Ketidakseimbangan kadar TNF- $\alpha$  dan GPx memperburuk stres oksidatif dan menghambat penyembuhan luka bakar. Terapi konvensional seperti povidone iodine dan silver sulfadiazine terbukti menurunkan viabilitas sel, menghambat migrasi serta proliferasi fibroblas, dan menimbulkan efek toksik, sehingga dapat memperlambat proses penyembuhan luka bakar.<sup>5,6</sup> Oleh karena itu, diperlukan terapi alternatif berbasis bahan alam yang memiliki aktivitas antiinflamasi dan antioksidan serta profil keamanan yang lebih baik, seperti propolis dan dexpanthenol.<sup>7-10</sup>

Pada tahun 2021, tercatat sekitar 6,19 juta kasus luka bakar termal dan prevalensi *Years Lived with Disability* (YLD) sebesar 2,67 juta di seluruh dunia.<sup>11</sup> Beban penyakit yang tinggi, menunjukkan bahwa luka bakar menyebabkan dampak jangka panjang yang berat terhadap kualitas hidup pasien.<sup>12</sup> Mayoritas insiden luka bakar terjadi di negara-negara berpendapatan rendah dan menengah, seperti Afrika dan Asia Tenggara, dengan rasio 7 kali lebih tinggi dibandingkan dengan negara berpendapatan tinggi.<sup>13</sup> Di Indonesia, Pusat Luka Bakar Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo melaporkan tingkat kematian akibat luka bakar sekitar 25,8% pada tahun 2013-2017.<sup>14</sup> Berdasarkan laporan Riskesdas tahun 2018, proporsi cedera luka bakar di Indonesia adalah 1,3%.<sup>15</sup> Luka bakar yang tidak ditangani dengan baik dapat menyebabkan berbagai komplikasi seperti pembentukan jaringan parut, gangguan imun sistemik, disfungsi multiorgan, infeksi, hingga dampak terhadap kesehatan mental pasien.<sup>16</sup>

Penyembuhan luka bakar melibatkan serangkaian proses kompleks yang saling tumpang tindih. Strategi penyembuhan luka bakar harus meliputi upaya proteksi dari infeksi dan ROS, modulasi inflamasi, serta peningkatan proliferasi dan migrasi sel.<sup>17</sup> Dalam konteks penyembuhan luka, propolis diketahui memiliki aktivitas antimikroba, antiinflamasi, antioksidan, regenerasi jaringan, dan imunomodulator. Kandungan propolis berupa senyawa golongan polifenol yang bertanggung jawab dalam aktivitas farmakologi tersebut. *Caffeic acid phenethyl ester* (CAPE) merupakan salah satu senyawa polifenol yang diketahui mampu menghambat aktivasi jalur persinyalan *nuclear factor- $\kappa$ B* (NF- $\kappa$ B). NF- $\kappa$ B memiliki peranan dalam regulasi sintesis sitokin pro-inflamasi seperti TNF- $\alpha$ .

Inhibisi jalur NF- $\kappa$ B akan menghambat transkripsi ROS.<sup>18-21</sup> Sementara dexpanthenol dalam bentuk aktifnya diketahui efektif dalam mempercepat proses penyembuhan luka dengan memperbaiki sawar kulit, meningkatkan kelembaban, melindungi kulit dari radikal bebas dan inflamasi, hingga meningkatkan proliferasi sel, dan akselerasi migrasi sel.<sup>17,22-24</sup>

Penelitian sebelumnya menunjukkan pemberian ekstrak propolis terhadap luka bakar derajat II mampu menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$ .<sup>18</sup> Sementara pemberian sediaan topikal dexpanthenol 5% pada luka tikus menunjukkan adanya peningkatan laju penyembuhan luka, neovaskularisasi, aktivasi fibroblas, densitas kolagen, skor kongesti serta ekspresi EGF.<sup>25</sup> Saat ini belum terdapat studi yang mengevaluasi secara spesifik efikasi sediaan yang mengandung kombinasi propolis dan dexpanthenol terhadap luka bakar, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Kombinasi keduanya diharapkan secara sinergis dapat membantu penyembuhan luka bakar dengan menurunkan kadar TNF- $\alpha$  dan meningkatkan kadar GPx.

Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol dalam bentuk hidrogel pada model hewan tikus Wistar jantan. Kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol diformulasikan dalam sediaan hidrogel karena hidrogel menyediakan lingkungan yang lembab sekaligus mencegah kontaminasi eksternal sehingga membantu mempercepat penyembuhan luka bakar.<sup>26</sup> Penelitian ini menggunakan tikus Wistar sebagai hewan uji karena fase penyembuhan luka tikus yang lebih cepat sehingga evaluasi dinamika inflamasi, stres oksidatif, dan respons terapi dapat dilakukan dalam waktu relatif singkat.<sup>27</sup> Tikus jantan dipilih untuk mencegah bias yang disebabkan oleh

variabilitas biologis akibat perbedaan jenis kelamin dan regulasi hormon yang dapat mempengaruhi respon imun.<sup>28</sup> Pengambilan sampel dan pengukuran TNF- $\alpha$  dan GPx dilakukan pada hari ke-8 pasca luka bakar, karena waktu ini mencerminkan fase transisi dari inflamasi menuju proliferasi. Studi oleh Lateef *et al.* (2019) menunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  pada rodensia memuncak pada hari ke-3 pasca luka dan mulai menurun hingga kembali normal pada hari ke-10.<sup>29</sup> Sementara itu, aktivitas antioksidan seperti GPx mengalami penurunan signifikan di awal fase luka bakar dan kembali pulih di hari ke-7 setelah pemberian senyawa golongan polifenol.<sup>30</sup> Dengan demikian, hari ke-8 dipilih sebagai waktu optimal untuk mengevaluasi resolusi inflamasi dan pemulihan jaringan.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Apakah terdapat pengaruh pemberian gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan Gpx pada jaringan kulit tikus jantan Wistar model luka bakar derajat II ?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

### **1.3.1. Tujuan Umum**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan kadar GPx pada jaringan kulit tikus jantan wistar model luka bakar derajat II.

### **1.3.2. Tujuan Khusus**

1. Mengetahui rerata kadar TNF- $\alpha$  pada jaringan kulit tikus jantan wistar sehat, tikus jantan wistar model luka bakar derajat II yang

diberi base gel, tikus jantan wistar model luka bakar derajat II yang diberi silver sulfadiazine, tikus jantan wistar model luka bakar derajat II yang diberi gel ekstrak propolis 10%, gel dexpanthenol 5%, kombinasi gel ekstrak propolis 5% dan gel dexpanthenol 2,5%, serta kombinasi gel ekstrak propolis 10% dan dexpanthenol 5%.

2. Mengetahui rerata kadar GPx pada jaringan kulit tikus jantan wistar sehat, tikus jantan wistar model luka bakar derajat II yang diberi placebo, tikus jantan wistar model luka bakar derajat II yang diberi silver sulfadiazine, tikus jantan wistar model luka bakar derajat II yang diberi gel ekstrak propolis 10%, gel dexpanthenol 5%, kombinasi gel ekstrak propolis 5% dan gel dexpanthenol 2,5%, serta kombinasi gel ekstrak propolis 10% dan dexpanthenol 5%.
3. Menganalisis perbedaan kadar TNF- $\alpha$  dan kadar GPx antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

##### **1.4.1. Manfaat Teoretis**

Hasil penelitian ini dapat menjadi bukti ilmiah mengenai pengaruh dosis kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol dalam modulasi kadar TNF- $\alpha$  dan GPx, serta memberikan dasar pengembangan terapi berbahan alam untuk luka bakar.

##### **1.4.2. Manfaat Praktis**

Hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat praktis berupa tersedianya alternatif terapi topikal yang lebih aman dan potensial untuk

membantu mempercepat penyembuhan luka bakar derajat II. Hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan oleh tenaga kesehatan dalam pemilihan bahan perawatan luka, serta menjadi dasar pengembangan produk gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol yang dapat digunakan masyarakat secara lebih luas.

### 1.5. Originalitas Penelitian

**Tabel 1.1** Originalitas Penelitian

| Peneliti                             | Judul Penelitian                                                                                                                        | Metode         | Hasil                                                                                                                                                                                                                                                          |
|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Dekebo et al., 2024 <sup>31</sup>    | <i>Wound Healing, Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Activities, and Chemical Composition of Korean Propolis from Different Sources</i> | <i>In vivo</i> | Ekstrak etanol propolis (EEP) dosis 5% dan 10% mempercepat penyembuhan luka, serta memberikan aktivitas antimikroba, antiinflamasi dan antioksidan. Kandungan flavonoid utama pada EEP yaitu pinocembrin, chrysin, dan apigenin.                               |
| Manginstar et al., 2025 <sup>8</sup> | <i>Dual anti-inflammatory and anti-microbial effects of stingless bee propolis on second-degree burns</i>                               | <i>In vivo</i> | Ekstrak methanol propolis menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$ dan meningkatkan ekspresi VEGF secara signifikan setelah 7 hari perlakuan. Propolis menghambat pertumbuhan MRSA dan <i>P. aeruginosa</i> .                                                         |
| Yildizhan et al., 2021 <sup>25</sup> | <i>Comparison of topical sucralfate with dexpanthenol in rat wound model</i>                                                            | <i>In vivo</i> | Laju penyembuhan luka pada kelompok tikus yang diberikan Dexpanthenol 5% maupun sucralfate 10% meningkat secara signifikan pada hari ke-7, 14, dan 21 dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, namun tidak ditemukan perbedaan yang bermakna antara kedua |

|                                   |                                                                                                                                       |                 | kelompok<br>tersebut.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | perlakuan           |
|-----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| Li-Mei et al., 2016 <sup>10</sup> | <i>Anti-inflammatory and Anti-oxidative Effects of Dexpanthenol on Lipopolysaccharide Induced Acute Lung Injury in Mice</i>           | <i>In vivo</i>  | Dexpanthenol menunjukkan aktivitas antioksidan dan antiinflamasi pada model tikus dengan cedera paru akut, yang ditandai dengan penurunan infiltrasi neutrofil penghambatan pelepasan TNF- $\alpha$ dan IL-6, penurunan aktivitas MPO dan MDA, serta peningkatan aktivitas SOD dan GSH.                                                  |                     |
| Xu et al., 2022 <sup>32</sup>     | <i>The Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Flavonoids from Propolis via Nrf2 and NF-<math>\kappa</math>B Pathways</i>        | <i>In vitro</i> | Kandungan utama propolis (chrysin, pinocembrin, pinobanksin) menunjukkan aktivitas antioksidan melalui aktivasi jalur Nrf2 dengan meningkatkan ekspresi SOD, CAT, HO-1, dan NQO1, serta aktivitas antiinflamasi melalui inhibisi NF- $\kappa$ B yang ditandai dengan penurunan NO, NOS, VCAM-1, IL-6, IL-1 $\beta$ , dan TNF- $\alpha$ . | flavonoid galangin, |
| Yigit et al., 2021 <sup>33</sup>  | <i>Protective effects of caffeic acid phenethyl ester on the heart in experimental periodontitis against oxidative stress in rats</i> | <i>In vivo</i>  | CAPE dapat meningkatkan kadar IL-1 $\beta$ , IL-10 dan menurunkan TNF- $\alpha$ , serta meningkatkan kadar GSH dan GPx dalam serum dan jaringan jantung tikus model periodontitis selama 14 hari.                                                                                                                                        |                     |

Berbagai penelitian telah membuktikan potensi propolis dan dexpanthenol secara tunggal dalam mempercepat penyembuhan luka bakar melalui mekanisme antiinflamasi dan antioksidan, sebagaimana terlampir pada Tabel 1.1. Penelitian sebelumnya melaporkan gel propolis dosis 5-10% menunjukkan efek penyembuhan

luka.<sup>31</sup> Sementara dexpanthenol pada konsentrasi 5% mampu memberikan efek yang setara dengan sucralfate 10% dalam penyembuhan luka.<sup>25</sup>

Manginstar *et al.* (2025) dalam penelitiannya melaporkan propolis memiliki aktivitas antiinflamasi yang ditunjukkan melalui penurunan kadar TNF- $\alpha$  dan peningkatan kadar VEGF pada jaringan tikus dengan luka bakar derajat II.<sup>8</sup> Selain itu, propolis dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang menunjang perbaikan luka bakar.<sup>1</sup> Kandungan utama propolis seperti chrysin, galangin, pinocembrin, dan pinobanksin dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan melalui modulasi jalur persinyalan Nrf2, serta aktivitas antiinflamasi melalui penghambatan jalur NF- $\kappa$ B.<sup>32</sup> Kandungan propolis lain seperti CAPE juga dilaporkan dapat meningkatkan kadar GSH dan GPx, serta menurunkan kadar TNF- $\alpha$ .<sup>33</sup> Penelitian oleh Yildizhan *et al.* (2021) membuktikan dexpanthenol mempercepat laju penyembuhan luka pada tikus.<sup>25</sup> Dexpanthenol juga dilaporkan mampu menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi serta menunjukkan aktivitas antioksidan pada model tikus dengan cedera paru akut.<sup>10,34</sup>

Penelitian-penelitian tersebut mendukung potensi propolis dan dexpanthenol sebagai antiinflamasi dan antioksidan dalam penyembuhan luka, namun saat ini belum terdapat studi yang secara spesifik mengevaluasi efek kombinasi kedua bahan tersebut luka bakar derajat II, khususnya melalui pemantauan *biomarker* TNF- $\alpha$  dan GPx. Oleh karena itu, penelitian ini merupakan penelitian pertama yang menguji efek kombinasi gel ekstrak propolis dan dexpanthenol terhadap progresi luka bakar derajat II melalui pengukuran kadar TNF- $\alpha$  dan GPx pada model tikus Wistar.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- $\alpha$ )**

##### **2.1.1. Pengertian**

*Tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) merupakan sitokin yang berperan sebagai regulator utama respons inflamasi tubuh dan dilepaskan oleh berbagai jenis sel, seperti makrofag, limfosit T, dan natural killer cell (sel NK). TNF- $\alpha$  memiliki peran penting dalam proses biologis seperti imunomodulasi, demam, respons inflamasi, inhibisi pembentukan tumor, regulasi organogenesis, dan inhibisi replikasi virus. TNF- $\alpha$  terdiri atas bentuk terlarut (sTNF- $\alpha$ ) dan transmembran (tmTNF- $\alpha$ ). tmTNF- $\alpha$  disintesis dalam bentuk prekursor dan dikonversi menjadi sTNF- $\alpha$  oleh TNF- $\alpha$  converting enzyme (TACE).<sup>35,36</sup>

##### **2.1.2. Aktivasi TNF- $\alpha$**

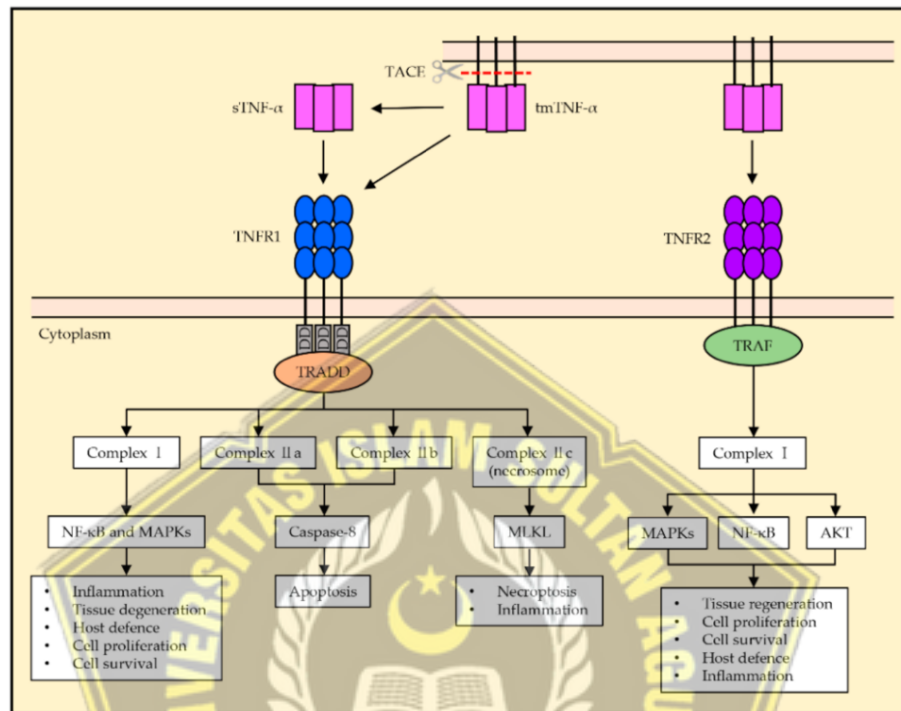
Aktivasi TNF- $\alpha$  bergantung erat pada aktivasi TACE. Aktivasi TACE dimulai setelah pelepasan prodomain. Sinyal eksternal seperti faktor pertumbuhan, stress, dan mediator inflamasi mengaktifasi jalur ERK atau p38 MAPK. Jalur ini menstimulasi fosforilasi domain sitoplasmik TACE, sehingga memicu translokasi TACE dari intraseluler ke permukaan sel. Translokasi dan maturase TACE bergantung pada protein adaptor iRhom2. Di permukaan sel, TACE berada dalam

bentuk dimer yang berikatan dengan TIMP-3 sehingga bersifat inaktif. Sinyal ERK/p38 selanjutnya menggeser keseimbangan dimer–monomer, menghasilkan dominasi bentuk TACE monomer pada membran plasma. Perubahan konformasi ini menurunkan afinitas terhadap TIMP-3 yang mengaktifkan TACE. Peningkatan TACE selanjutnya menstimulasi aktivitas konversi tmTNF- $\alpha$  menjadi sTNF- $\alpha$ .<sup>37</sup>

### 2.1.3. Mekanisme Kerja TNF- $\alpha$

Persinyalan TNF- $\alpha$  dimediasi melalui dua reseptor, yaitu TNFR1 dan TNFR2. Gambar 2.1 mengilustrasikan jalur aktivasi kedua reseptor ini. TNFR1, reseptor utama dalam persinyalan TNF- $\alpha$ , terdapat di seluruh jaringan tubuh dan dapat diaktivasi oleh sTNF- $\alpha$  dan tmTNF- $\alpha$ . TNFR2 diekspresikan pada sel imun, neuron, dan sel endotel. Aktivasi TNFR1 memicu pembentukan kompleks I, IIa, IIb, dan IIc. Kompleks I mengaktifkan jalur persinyalan NF- $\kappa$ B dan MAPKs, sehingga menginduksi respons inflamasi, kerusakan jaringan, proliferasi dan kelangsungan hidup sel, serta regulasi pertahanan imun terhadap patogen. Kompleks IIa dan IIb mengaktivasi kaskade caspase yang berkontribusi pada apoptosis. Setelah apoptosis, sel yang mati segera difagositosis oleh makrofag sehingga mengurangi produksi sitokin inflamasi. Kompleks IIc mengaktifkan efektor nekroptosis, yaitu *mixed lineage kinase domain-like protein* (MLKL), melalui mekanisme yang bergantung pada RIPK3. Berbeda dengan apoptosis, nekroptosis menyebabkan kerusakan pada membran plasma yang mengarah pada pelepasan isi sel dan inflamasi lokal. Nekroptosis yang diinduksi oleh TNF pada

permukaan penghalang (*barrier*) seperti kulit dan mukosa usus dapat merusak fungsi penghalang sehingga memicu inflamasi.



**Gambar 2.1** Mekanisme Kerja TNF- $\alpha$

TNFR2 diaktifkan sepenuhnya oleh tmTNF- $\alpha$ . TNFR2 tidak memiliki domain apoptosis sehingga tidak dapat menginduksi kematian sel terprogram secara langsung. TNFR2 bekerja dengan merekrut TRAF2 bersama TRAF1, cIAP1, dan cIAP2, yang memungkinkan aktivasi jalur NF- $\kappa$ B, MAPK, dan AKT. Secara fungsional, TNFR2 berperan lebih banyak pada aktivitas homeostatik, seperti regenerasi jaringan, proliferasi sel, dan kelangsungan hidup sel, meskipun juga dapat memicu respons inflamasi dan pertahanan tubuh terhadap patogen. Secara keseluruhan, TNFR1 berperan penting dalam menginduksi respons TNF- $\alpha$  yang sitotoksik dan proinflamasi, sementara TNFR2 lebih banyak memediasi aktivasi, migrasi, atau proliferasi sel.<sup>36,38</sup>

#### 2.1.4. Peran TNF- $\alpha$ pada Luka Bakar

Pada fase inflamasi setelah terjadinya luka bakar, kadar TNF- $\alpha$  meningkat secara lokal dan sistemik, sehingga mengaktivasi kaskade inflamasi yang mempengaruhi perkembangan dan penyembuhan luka. Studi oleh Aleksiewicz *et al.* (2018) mengevaluasi kadar TNF- $\alpha$  setelah induksi luka bakar derajat II hingga III pada babi menunjukkan adanya peningkatan kadar TNF- $\alpha$  secara signifikan pada mulai jam ke-6 setelah luka bakar, memuncak pada jam ke-36 (2,5 kali lipat lebih tinggi daripada kelompok kontrol), dan tetap tinggi hingga jam ke-84 (2 kali lipat lebih tinggi dari kontrol).<sup>39</sup> Penelitian lainnya oleh Lateef *et al.* (2019) menunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  pada rodensia memuncak pada sekitar hari ke-3 pasca luka bakar dan mulai menurun hingga kembali normal pada hari ke-10.<sup>29</sup> Meta-analisis pada 352 studi luka bakar pada hewan menyebutkan bahwa peningkatan kadar sitokin proinflamasi pasca luka bakar, seperti TNF- $\alpha$ , berkorelasi positif dengan luas luka bakar.<sup>28</sup> Temuan ini memperkuat signifikansi TNF- $\alpha$  pada progresi luka bakar, sehingga TNF- $\alpha$  dipilih menjadi biomarker.

### 2.2. *Glutathione Peroxidase* (GPx)

#### 2.2.1. Definisi

*Glutathione peroxidase* (GPx) adalah enzim antioksidan endogen yang berfungsi untuk mencegah akumulasi radikal peroksida ( $H_2O_2$ ), baik di dalam maupun luar sel. GPx dapat ditemukan di semua sel tubuh, termasuk mitokondria, sitosol, dan peroksisom. Keluarga enzim GPx terdiri dari 8 isoform, yaitu GPx1,

GPx2, GPx3, GPx4, GPx5, GPx6, GPx7, dan GPx8. Masing-masing isoform memiliki mekanisme dan situs aksi yang berbeda untuk mempertahankan keseimbangan redoks.<sup>40</sup>

*Glutathione peroxidase-1* (GPx1) merupakan enzim antioksidan yang pertama kali diidentifikasi pada sel darah merah yang melindungi hemoglobin dari stres oksidatif. GPx1 berperan dalam mengurangi hidroperoksida, termasuk hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), dengan bantuan selenium. GPx1 bekerja dengan mengubah selenol aktif pada situs aktifnya menjadi selenat setelah reaksi dengan peroksida, yang kemudian direduksi kembali oleh *glutathione* untuk mengembalikan fungsi aktif enzim. GPx1 berperan besar dalam melindungi tubuh dari stres oksidatif sistemik. Defisiensi GPx1 pada tikus menunjukkan peningkatan kerusakan sel dan jaringan dan memperburuk cedera oksidatif. Sebaliknya, peningkatan ekspresi GPx1 dapat memberikan efek perlindungan pada jaringan dan mengatur respon inflamasi.

### 2.2.2. Persinyalan Nrf2 dalam Regulasi Transkripsi GPx

Nrf2 adalah faktor transkripsi dari keluarga *cap "n" collar* (CNC) bZIP yang terdiri atas tujuh domain struktural (Neh1–Neh7) dengan fungsi spesifik. Dalam kondisi dasar, Nrf2 terikat oleh protein adaptor redoks-sensitif Keap1 melalui domain Neh2. Kompleks Nrf2–Keap1 merekrut ligase ubiquitin Cul3, sehingga Nrf2 terus-menerus mengalami ubiquitinasi dan degradasi proteasomal. Hal ini menyebabkan kadar Nrf2 intraseluler menjadi sangat rendah.

Saat terjadi stres oksidatif, residu sistein reaktif pada Keap1 teroksidasi, menyebabkan inaktivasi Keap1 dan stabilisasi Nrf2. Nrf2 yang terlepas kemudian bertranslokasi ke inti sel, lalu membentuk dimer dengan protein sMaf (MafF, MafG, MafK). Kompleks Nrf2–sMaf ini kemudian mengikat *antioxidant response element* (ARE) di wilayah promotor gen target. Salah satu gen target utama Nrf2 adalah GPx, khususnya isoform GPx2, yang berperan penting dalam detoksifikasi ROS. Nrf2 tidak hanya menginduksi GPx2, tetapi juga enzim lain seperti *glutathione S-transferases* (GSTs), HO-1, NQO1, serta enzim pembentuk NADPH (G6PD, IDH1, ME1) yang menyediakan kofaktor reduksi.<sup>41</sup>

### 2.2.3. Mekanisme Kerja GPx



ROS adalah produk sampingan metabolik sel yang dihasilkan melalui proses respirasi mitokondria. Meskipun ROS memiliki efek menguntungkan seperti pembunuhan patogen, penyembuhan luka, dan aktivitas perbaikan. Kadar ROS berlebih dapat menyebabkan stres oksidatif sehingga memicu apoptosis, nekrosis, dan respon inflamasi. Enzim GPx bekerja sama dengan enzim superoxide dismutase (SOD) dan katalase sebagai sistem antioksidan enzimatis pada mamalia, berperan penting dalam mengendalikan kelebihan ROS.<sup>42</sup> GPx-1 adalah enzim antioksidan yang paling melimpah dengan hidrogen peroksida sebagai substrat utamanya. GPx-1 mereduksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> melalui reaksi (1).

*Glutathione* (GSH) teroksidasi menjadi GSSG dan senyawa radikal seperti  $H_2O_2$  direduksi menjadi air dan oksigen oleh GPx. GSH kemudian teroksidasi menjadi GSSG. Untuk mempertahankan kadar GSH, GSSG direduksi kembali menjadi GSH oleh enzim *glutathione reductase* (GR) dengan bantuan NADPH sebagai pendonor elektron. Rasio GSH/GSSG mengindikasikan status redoks seluler yang mempengaruhi berbagai proses fisiologis seperti diferensiasi, proliferasi, dan apoptosis.<sup>43–45</sup>

#### 2.2.4. Peran GPx pada Luka Bakar

Pada kondisi luka bakar, terjadi peningkatan produksi ROS secara berlebihan akibat aktivasi sistem komplemen, neutrofil intravaskular, dan aktivitas enzim xanthine oxidase. Produksi masal ROS dan stres oksidatif yang ditimbulkan dapat menyerang jaringan, mengoksidasi lipid, merusak fungsi sel, hingga menyebabkan sindrom disfungsi organ multipel (MODS). Peningkatan ROS juga memicu pelepasan sitokin inflamasi melalui berbagai mekanisme, termasuk aktivasi inflammasome NLRP3, yang mendorong pelepasan  $TNF-\alpha$  dan  $IL-1\beta$ . Hal ini dapat memperparah inflamasi pada pasien luka bakar.<sup>46</sup> Sebagai antioksidan endogen, GPx berperan penting dalam menjaga keseimbangan redoks dan menetralkan ROS berlebih pada jaringan luka bakar. Studi *cross-sectional* pada 40 pasien luka bakar menunjukkan penurunan signifikan pada rasio GSH/GSSG dan keseimbangan prooksidan/antioksidan (PAB).<sup>47</sup> Oleh karena itu, peran penting GPx dalam penyembuhan luka bakar menjadikan pemantauan GPx dapat menjadi indikator potensial untuk menilai progresi luka bakar.

## 2.3. Propolis

### 2.3.1. Definisi

Propolis adalah campuran resin, lilin lebah, minyak esensial, dan serbuk sari yang dikumpulkan lebah untuk melindungi dan memperbaiki sarang lebah. Propolis mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, terpen, asam fenolat, aldehid, keton, serta hidrokarbon, mineral, vitamin, dan enzim. 12 flavonoid utama yang terkandung pada propolis yaitu chrysin, galangin, pinocembrin, acacetin, rutin, luteolin, kaempferol, apigenin, myricetin, catechin, pinobanksin, naringenin, dan quercetin. Asam fenolat yang terkandung dalam propolis yaitu serta asam kafeat dan asam sinamat. Propolis berperan penting sebagai antioksidan, antimikroba, dan antiinflamasi, serta memiliki efek protektif terhadap hati, antitumor, kesehatan mulut, regulasi lipid, efek antivaskular, penurunan gula darah, dan lainnya.<sup>19</sup>

### 2.3.2. Propolis dalam Penyembuhan Luka

Aktivitas penyembuhan luka propolis diperantarai oleh mekanisme antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, dan imunomodulator. Efek antiinflamasi propolis umumnya berkaitan dengan kandungan flavonoid dan asam fenolat yang dimiliki.<sup>19</sup> *Caffeic acid phenethyl ester* (CAPE), asam kafeat pada propolis, diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi melalui mekanisme inhibisi produksi sitokin dan *chemokine*. CAPE menekan aktivasi persinyalan NF- $\kappa$ B dan menghambat jalur lipoksigenase metabolisme asam arakidonat yang dipicu oleh

stres oksidatif dan infeksi. CAPE menghambat interaksi NF- $\kappa$ B dengan DNA, serta menghambat degradasi I $\kappa$ B- $\alpha$  dan fosforilasi p65. Hal ini berdampak pada penurunan ekspresi berbagai sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, dan iNOS. Beberapa studi juga menunjukkan bahwa pemberian CAPE secara lokal dapat meningkatkan apoptosis leukosit dan menurunkan infiltrasi sel inflamasi di jaringan.<sup>21</sup> Xu et al (2022) melaporkan kandungan flavonoid utama pada propolis, seperti chrysin, galangin, pinocembrin, dan pinobanksin, memiliki aktivitas antiinflamasi melalui inhibisi jalur NF- $\kappa$ B.<sup>32</sup> Penghambatan persinyalan NF- $\kappa$ B memicu penurunan TNF- $\alpha$  serta meningkatkan kapasitas antioksidan endogen, seperti aktivitas enzim GPx. Penelitian lainnya menunjukkan peran propolis dalam mempercepat proses penyembuhan luka yang ditandai dengan penurunan kadar biomarker inflamasi seperti IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , dan hs-CRP, serta berkurangnya infiltrasi sel imun di lokasi inflamasi. Efek antiinflamasi ini ditemukan pada berbagai jenis propolis dari beragam asal geografis dan spesies lebah, menunjukkan konsistensi aktivitas biologis propolis secara keseluruhan.<sup>48</sup>

Propolis memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena kandungan flavonoid, asam fenolat, dan senyawa alkena jamur yang terdapat di dalamnya. Propolis mampu menurunkan konsentrasi radikal bebas setelah luka bakar. Propolis bekerja dengan cara menetralkan radikal bebas secara langsung, meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seluler, serta memodulasi jalur transduksi sinyal yang terkait stres oksidatif. Propolis dari berbagai wilayah seperti Palestina, Maroko, dan Tigzirt menunjukkan kemampuan antioksidan yang konsisten dan kuat, ditandai dengan penurunan kadar penanda inflamasi (seperti TNF- $\alpha$ , PGE2, MPO, MDA)

serta peningkatan kapasitas antioksidan total dalam plasma.<sup>19</sup> Studi oleh Ruiz-Hurtado *et al.* (2021) mengenai efek propolis Chihuahua terhadap ulkus lambung menunjukkan peningkatan ekspresi enzim antioksidan (SOD dan GPx), penurunan MDA, serta penurunan kadar PGE2.<sup>49</sup> Aktivitas antioksidan propolis utamanya dimediasi melalui stimulasi persinyalan Nrf2.<sup>32</sup>

Kandungan polifenol dan flavonoid pada propolis juga menghasilkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Efek imunomodulator propolis terutama terlihat pada makrofag, produksi antibodi limfosit, dan aktivitas antitumor, yang dapat mengatur presentasi antigen, fagositosis, produksi sitokin, dan inflamasi. Penelitian menunjukkan bahwa propolis dapat mengatur fungsi dasar sel imun dan meningkatkan sintesis DNA serta produksi sitokin melalui jalur pensinyalan Erk2-MAP kinase.<sup>19</sup>

Penelitian ini menggunakan ekstrak propolis dengan merek Propoelix® yang diperoleh dari *Health and Happiness International* (HDI) dengan tingkat kemurnian 100%. Ekstrak propolis diperoleh melalui metode ekstraksi cair-cair (*liquid-liquid extraction*) menggunakan sistem *Continuous Multistage Counter-Current Extraction* (CMCE) dengan etanol 70% sebagai pelarut.

## 2.4. Dexpanthenol

### 2.4.1. Definisi

Dexpanthenol, atau D-panthenol, merupakan bentuk alkohol dari asam pantotenat (vitamin B5) yang berfungsi sebagai provitamin B5. Secara kimiawi, panthenol memiliki rumus kimia  $C_9H_{19}NO_4$  dan terdapat dalam dua bentuk enantiomer, D-panthenol (Dexpanthenol) dan L-panthenol, dengan enantiomer dexpanthenol aktif secara biologis. Dexpanthenol diubah menjadi asam pantotenat (vitamin B5) di kulit. Vitamin B5 merupakan prekursor dari koenzim A (CoA), yang berfungsi sebagai kofaktor dalam sintesis asam lemak dan sphingolipid yang berperan menjaga integritas membran sel dan lapisan stratum korneum. Dexpanthenol banyak digunakan dalam dermatologi, seperti pengobatan dermatitis atopik ringan hingga sedang pada anak-anak, serta mengelola efek samping mukokutan selama terapi isotretinoin.<sup>50</sup>

### 2.4.2. Peran Dexpanthenol pada Penyembuhan Luka

Dexpanthenol diketahui mendukung seluruh fase penyembuhan luka, mulai dari modulasi inflamasi, perlindungan terhadap radikal bebas, stimulasi proliferasi sel, hingga percepatan migrasi sel. Penggunaan dexpanthenol meningkatkan ekspresi gen-gen yang berperan dalam penyembuhan luka seperti IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8, MMP3, CXCL10, dan RARRES1, serta meningkatkan ekspresi Ki67 sebagai penanda proliferasi. Selain itu, prekursor aktifnya, kalsium pantotenat, juga terbukti merangsang proliferasi fibroblas dermal secara signifikan, memperkuat peran

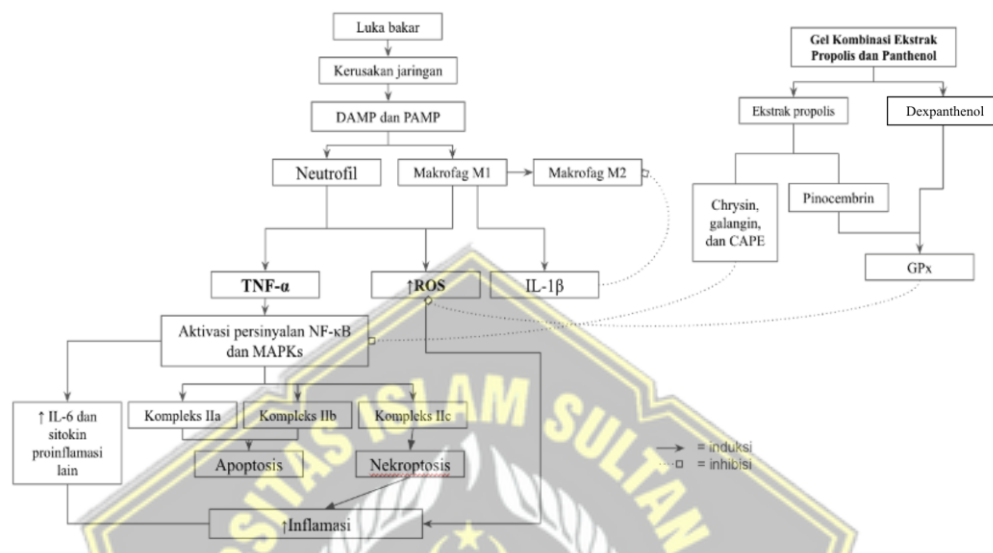
Dexpanthenol sebagai agen topikal yang efektif dalam mempercepat regenerasi jaringan.<sup>22</sup> Penelitian oleh Yildizhan *et al.* (2021) menunjukkan bahwa pemberian 5% Dexpanthenol pada tikus Wistar albino jantan mempercepat laju penyembuhan luka secara signifikan sejak hari ke-7. Hasil ini didukung oleh peningkatan skor neovaskularisasi, aktivasi fibroblas, ekspresi kolagen, densitas kolagen, dan skor kongesti. Analisis statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna antara 5% Dexpanthenol dan 10% sucralfate dalam penelitian ini.<sup>25</sup> Penelitian lain melaporkan bahwa serat nanofiber inti/cangkang yang mengandung Dexpanthenol secara signifikan mempercepat penyembuhan luka dengan menurunkan kadar MDA dan meningkatkan aktivitas SOD pada jaringan mencit, sekaligus mendukung viabilitas fibroblas melalui pelepasan obat secara bertahap.<sup>23</sup>

Penelitian ini menggunakan serbuk Dexpanthenol *pharmaceutical grade* yang diproduksi oleh MERCK dengan tingkat kemurnian 100%. Secara farmakologis, bahan ini berfungsi sebagai agen pelembap, antiinflamasi ringan, dan stimulan regenerasi jaringan epitel kulit.

## 2.5. Mekanisme Kombinasi Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol

Luka bakar derajat II menyebabkan kerusakan epidermis dan sebagian dermis yang memicu stres oksidatif serta respon inflamasi berlebihan. Pada fase inflamasi, kerusakan jaringan dan infeksi menstimulasi pelepasan DAMP dan PAMP yang mengaktifasi jalur NF- $\kappa$ B, sehingga meningkatkan produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  dan ROS. Kelebihan ROS mengganggu keseimbangan oksidatif-antioksidatif, menurunkan aktivitas enzim antioksidan seperti GPx dan

memperlambat proses regenerasi jaringan. Oleh karena itu, pengendalian inflamasi dan stres oksidatif menjadi kunci dalam mempercepat penyembuhan luka bakar.



**Gambar 2.2** Mekanisme Kerja Kombinasi Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol

Kombinasi Ekstra propolis dan dexpanthenol bekerja secara sinergis melalui aktivitas anti inflamasi dan anti oksidan. Senyawa bioaktif propolis seperti chrysin, galangin, dan CAPE menghambat aktivasi NF-κB serta menurunkan produksi TNF-α dan mediator inflamasi lainnya. Pinocembrin di dalam propolis meningkatkan ekspresi enzim antioksidan seperti SOD, GSH, dan GPx, sekaligus menurunkan pembentukan ROS, NO, dan MDA. Sementara itu, panthenol memperkuat efek tersebut dengan menekan peroksidasi lipid (penurunan MDA) dan meningkatkan aktivitas SOD. Kombinasi keduanya mampu menurunkan kadar TNF-α secara signifikan, meminimalisasi inflamasi lokal, serta meningkatkan kadar GPx untuk mengembalikan keseimbangan redoks seluler.

## 2.6. Silver Sulfadiazine

Silver sulfadiazine merupakan agen topikal mengandung sulfonamide yang digunakan untuk mencegah dan menangani infeksi pada luka. FDA telah menyetujui penggunaan silver sulfadiazine topikal untuk menangani luka bakar derajat II dan III pada konsentrasi 1%.<sup>51</sup> Silver sulfadiazine merupakan antimikroba bakterisid spektrum luas yang efektif membunuh bakteri Gram positif, Gram negatif, dan beberapa jamur. Kandungan ion perak berperan penting dalam aktivitas antibakteri silver sulfadiazine. Ion perak berikatan dengan jaringan dan protein intraselular, DNA, dan RNA bakteri sehingga mengganggu proses respirasi bakteri. Selain itu, silver sulfadiazine secara aktif membentuk ROS yang memicu perubahan struktural pada dinding sel, membran intraselular, dan membran inti bakteri. Silver sulfadiazine bekerja pada permukaan kulit, namun tidak banyak berpenetrasi ke lapisan kulit yang lebih dalam.

Silver sulfadiazine memperlambat re-epitelialisasi dan membentuk pseudoeschar yang menghalangi penilaian luka bakar, sehingga penggunaannya harus dibatasi. Ion perak diketahui bersifat sitotoksik yang dapat mengganggu penyembuhan luka bakar non-infeksi. Efek samping yang umum termasuk gangguan hematologi seperti agranulositosis, anemia aplastik, anemia hemolitik, dan leukopenia, serta reaksi dermatologi seperti erythema multiforme, pruritus, dan sindrom Stevens-Johnson.<sup>51,52</sup>

## 2.7. Luka Bakar

### 2.7.1. Pengertian dan Klasifikasi

Luka bakar terjadi akibat kontak kulit dengan sumber panas, seperti suhu tinggi, listrik, gesekan, radiasi, atau bahan kimia. Tingkat keparahan luka bakar dipengaruhi oleh suhu, durasi paparan, lokasi luka, dan luas permukaan tubuh yang terpapar. Berdasarkan luas permukaan tubuh yang terdampak, luka bakar dibedakan menjadi luka bakar minor dan luka bakar mayor. Luka bakar dikelompokkan sebagai minor apabila melibatkan kurang dari 10% *Total Body Surface Area* (TBSA) pada orang dewasa atau kurang dari 5% TBSA pada anak-anak, biasanya berupa luka bakar derajat I, atau luka bakar derajat III dengan luas kurang dari 2% TBSA. Sementara luka bakar dikategorikan mayor jika meliputi lebih dari 20% TBSA pada orang dewasa atau lebih dari 10% TBSA pada anak-anak dan remaja, merupakan luka bakar derajat III dengan luas lebih dari 5% TBSA, atau mengenai area tubuh vital seperti wajah, mata, telinga, sendi, dan genitalia.

Luka bakar terbagi menjadi 4 tipe berdasarkan kedalamannya:

1. Luka bakar derajat I (*superficial*) mempengaruhi lapisan epidermis, ditandai dengan kemerahan, pembengkakan, dan rasa nyeri yang dapat hilang dalam 2-3 hari. Contoh dari luka bakar ini adalah luka bakar ringan akibat sinar matahari. Penyembuhan umumnya berlangsung selama 5-10 hari tanpa meninggalkan bekas luka.
2. Luka bakar derajat II (*partial-thickness*) melibatkan epidermis dan sebagian dermis (lapisan kulit yang lebih dalam). Luka bakar derajat II dibagi

menjadi luka bakar derajat IIa (*superficial partial-thickness*) dan luka bakar derajat IIb (*deep partial-thickness*). Luka bakar derajat IIa mempengaruhi lapisan superfisial dermis dan sering disertai lepuhan. Setelah lepuhan terbuka, dasar luka akan tampak merah atau pink dan memutih saat ditekan. Luka bakar derajat IIa menimbulkan rasa nyeri dan biasanya sembuh dalam 2-3 minggu dengan sedikit bekas luka.

Luka bakar derajat IIb melibatkan lapisan epidermis hingga dermis dengan kedalaman yang bervariasi. Sama seperti luka bakar derajat IIa, luka ini sering disertai lepuhan yang utuh. Setelah lepuhan dibuka, dasar luka akan tampak bercak-bercak dan memutih secara perlahan saat ditekan (*blanch*). Luka bakar jenis ini umumnya menimbulkan rasa sakit minimal, yang hanya terasa saat diberikan tekanan yang dalam. Penyembuhan biasanya memakan waktu 21-35 hari dan kemungkinan akan meninggalkan bekas luka. Luka ini dapat sembuh tanpa pembedahan, namun memerlukan eksisi bedah dan cangkok kulit.

3. Luka bakar derajat III (*full-thickness*) merusak lapisan epidermis dan dermis, hingga mencapai jaringan subkutan. Kulit mungkin terlihat keras, kering atau gosong. Luka bakar derajat III tidak menimbulkan rasa sakit. Luka tipe ini memerlukan tindakan bedah dan dapat menyebabkan kerusakan jaringan permanen.
4. Luka bakar derajat IV (*full-thickness*) mencakup lapisan kulit yang lebih dalam, seperti jaringan subkutan hingga otot dan tulang. Luka bakar derajat

IV ditandai dengan warna hitam, serta membutuhkan tindakan bedah dan perbaikan fungsional.<sup>13,16,53–55</sup>

### 2.7.2. Patomekanisme Luka Bakar

Pasca luka bakar terbentuk 3 zona di area luka, yaitu zona koagulasi, stasis dan hiperemia. Zona koagulasi terletak di bagian tengah luka, ditandai dengan jaringan yang mengalami nekrosis total dan tidak dapat diperbaiki. Zona stasis terletak di sekitar zona koagulasi, ditandai dengan dengan perfusi jaringan yang melambat akibat vasokonstriksi kapiler dan iskemia. Zona stasis berpotensi pulih jika diberikan tindakan resusitasi yang cepat dan perawatan luka yang tepat, namun dapat berkembang menjadi nekrosis jika perfusi berkurang, terjadi edema, atau infeksi. Zona hiperemia terletak di bagian paling luar, ditandai dengan dengan sel-sel yang masih hidup dan vasodilatasi yang dimediasi oleh mediator inflamasi lokal. Jaringan di zona ini umumnya akan sembuh sepenuhnya, kecuali jika terjadi komplikasi seperti infeksi atau hipoperfusi berat.<sup>13,56</sup>

Penyembuhan luka secara umum terdiri atas 4 fase: hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling.

- a. Hemostasis terjadi segera setelah cedera (menit ke 0-10). Fase hemostasis meliputi tahapan vasokonstriksi, aktivasi dan agregasi platelet, serta pelepasan faktor pembekuan dan faktor pertumbuhan (co: PDGF, EGF, dan TGF- $\beta$ ) oleh platelet, keratinosit, makrofag, dan fibroblas. Hal ini memicu deposisi matriks bekuan fibrin pada lokasi

cedera, yang berfungsi sebagai matriks sementara untuk tahap penyembuhan berikutnya.

- b. Setelah hemostasis tercapai, vasodilatasi dan pelepasan mediator inflamasi oleh jaringan luka terjadi bersamaan, memicu kemotaksis makrofag dan neutrofil, menginisiasi fase inflamasi. Neutrofil dan makrofag bertanggung jawab dalam fagositosis dan lisis organisme asing, pembersihan debris, opsonisasi yang dimediasi oleh sistem komplemen, serta pemusnahan bakteri melalui mekanisme ledakan oksidatif. Selama proses ini, terjadi peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berfungsi untuk membunuh patogen, namun akumulasi ROS berlebih dapat merusak jaringan di sekitar luka. Peningkatan ROS ini diikuti oleh penurunan aktivitas enzim antioksidan seperti GPx, yang berperan penting dalam menetralkan hidrogen peroksida. Ketidakseimbangan antara ROS dan GPx menyebabkan stres oksidatif yang dapat memperlambat penyembuhan luka bakar.<sup>1</sup>
- Selain itu, neutrofil dan makrofag juga melepaskan sitokin dan kemokin (seperti IL-1, IL-8, dan TNF) serta faktor pertumbuhan (termasuk TGF- $\beta$ , IGF, dan VEGF) yang juga berperan dalam pembersihan debris dan patogen dari lokasi cedera. Fase inflamasi dimulai dalam 24 jam setelah cedera dan dapat berlangsung selama beberapa minggu hingga bulan, tergantung pada keparahan cedera. Meskipun inflamasi penting dalam penyembuhan luka, respons yang berlebihan atau berkepanjangan dapat menghambat regenerasi jaringan.

- c. Fase proliferasi dimulai 4 hari setelah cedera dan berlangsung hingga 14 hari. Proses yang terjadi di fase ini meliputi reepitelialisasi, angiogenesis, sintesis kolagen, dan pembentukan matriks ekstraseluler (ECM) untuk memperbaiki jaringan dan membentuk jaringan granulasi. Pada fase proliferasi, pelepasan sitokin dan faktor pertumbuhan memicu perekrutan dan aktivasi fibroblas dan keratinosit ke lokasi luka. Hal ini menyebabkan penggantian matriks sementara dengan matriks jaringan ikat, pembentukan jaringan granulasi (jaringan ikat baru dan pembuluh darah mikroskopis), angiogenesis, dan epitelialisasi. Sel endotel diaktifkan oleh faktor pertumbuhan (co: VEGF, HGF, dan FGF) untuk memulai angiogenesis. Reepitelialisasi terjadi melalui migrasi dan diferensiasi keratinosit dari lapisan basal dan sel punca epitel. Keratinisasi dipicu oleh beberapa jalur MAP kinase yang diaktifkan oleh kalsium, EGF, dan TNF. Pada tahap ini, sel fibroblas berproliferasi dan kolagen disintesis, sehingga membantu produksi ECM lebih lanjut
- d. Fase terakhir penyembuhan luka adalah maturasi atau remodeling, yang dapat berlangsung selama berbulan-bulan hingga tahunan. Pada fase ini, sel fibroblas meninggalkan area luka dan susunan kolagen pada matriks diperbaiki. Faktor pertumbuhan seperti *matrix metalloproteinase* (MMP) dan *tissue inhibitors of metalloproteinase* (TIMP) memicu remodeling ECM dan jaringan granulasi bertransisi menjadi jaringan parut, diikuti dengan kontraksi luka yang dipicu oleh ketegangan mekanik dan diferensiasi fibroblas menjadi miofibroblas. Miofibroblas

berperan dalam peningkatan kekuatan tarik (*tensile strength*) jaringan dengan membentuk ikatan silang kolagen dan sekresi ECM.<sup>13,55</sup>

### 2.7.3. Patomekanisme Molekular Penyembuhan Luka Bakar

Luka bakar menyebabkan kerusakan pembuluh sehingga memicu hemostasis, mencakup vasokonstriksi, pembentukan bekuan fibrin, dan koagulasi. Matriks subendotel yang rusak memicu aktivasi trombosit, yang kemudian melepaskan ratusan molekul bioaktif seperti PDGF, TGF- $\beta$ , VEGF, trombin, dan kemokin, yang tidak hanya menghentikan perdarahan tetapi juga menyediakan dasar fibrin (*eschar*) untuk masuknya sel imun, fibroblas, dan endotel.

Pada fase inflamasi, cedera memicu pelepasan DAMP dan PAMP yang mengaktivasi *toll-like receptor* (TLR). Aktivasi TLR menstimulasi jalur inflamasi dan pelepasan sitokin proinflamasi, khususnya TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ , yang berperan sebagai kemokin kuat untuk menarik leukosit. Neutrofil merupakan sel pertama yang masuk, ditarik oleh sinyal TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan LPS. Neutrofil melakukan fagositosis dan melepaskan ROS bersama protease dan NET untuk menghancurkan patogen. Kemotaksis monosit ke situs luka memicu diferensiasi monosit menjadi makrofag. Pada tahap awal, makrofag (M1) menghasilkan ROS, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, VEGF, dan PDGF yang memperpanjang inflamasi dan memicu angiogenesis awal. Selanjutnya, makrofag bergeser ke fenotipe antiinflamasi (M2) yang

melepaskan IL-4, IL-10, TGF- $\beta$ , IL-13, dan arginase untuk menekan inflamasi dan menstimulasi perbaikan jaringan.

Pada fase proliferasi, ROS dalam kadar sedang berperan sebagai sinyal aktivasi keratinosit di tepi luka bersama faktor pertumbuhan dan sinyal mekanik. Keratinosit bermigrasi menutup luka dengan bantuan MMP-1, MMP-9, dan plasmin. Fibroblas yang teraktivasi oleh PDGF dan TGF- $\beta$  mulai memproduksi kolagen, fibronectin, dan proteoglikan. Sebagian fibroblas berdiferensiasi menjadi miofibroblas ( $\alpha$ -SMA) yang berkontraksi untuk memperkecil luka. TNF- $\alpha$ , selain memicu inflamasi, juga memengaruhi proliferasi endotel dan fibroblas dalam angiogenesis awal. Kondisi hipoksia lokal mengaktifkan HIF-1 $\alpha$  yang meningkatkan VEGF, sehingga bersama TNF- $\alpha$  dan ROS mempercepat pembentukan pembuluh darah baru. Makrofag berperan besar dengan mensekresi VEGF, TGF- $\beta$ , MMP, serta mempertahankan kadar TNF- $\alpha$  yang cukup untuk mendukung remodeling vaskular.

Pada fase akhir remodeling, fibroblas menggantikan matriks fibrin sementara dengan hyaluronan, fibronectin, proteoglikan, dan kolagen tipe III. Kolagen ini secara bertahap digantikan oleh kolagen tipe I untuk meningkatkan kekuatan tarik jaringan. TGF- $\beta$  tetap mengatur deposisi kolagen, sedangkan integrin fibroblas (misalnya  $\alpha$ 2 $\beta$ 1) menjaga interaksi dengan ECM untuk kontraksi matriks. Aktivitas MMP dan TIMP memastikan keseimbangan degradasi dan sintesis kolagen. ROS yang berlebihan pada fase ini dapat mengganggu kualitas kolagen, sementara

TNF- $\alpha$  yang tidak terkontrol dapat memicu fibrosis berlebihan. Remodeling juga ditutup dengan apoptosis sel imun, fibroblas, dan endotel, meninggalkan jaringan parut yang lebih kuat namun kurang elastis dibanding kulit normal.<sup>57</sup>

## 2.8. Sediaan Gel

Gel adalah sistem semisolid homogen dengan matriks polimer tiga dimensi yang dapat bersifat hidrofilik maupun lipofilik. Sistem ini terdiri atas medium dispersi dan partikel terdispersi yang merata, biasanya transparan atau tembus cahaya. Berdasarkan agen pembentuknya, gel terdiri atas organogel dan hidrogel. Secara umum, gel memiliki keunggulan dalam melepaskan zat aktif secara terkontrol (*controlled release*).<sup>58</sup>

Dalam konteks penyembuhan luka, sistem penghantaran yang ideal harus bersifat *biodegradable*, biokompatibel, mampu mempertahankan kelembapan, memfasilitasi oksigenasi, menyerap eksudat, serta memiliki sifat antibakteri. Hidrogel efektif dalam menyediakan lingkungan yang optimal dalam penyembuhan luka karena mampu menjaga kelembapan luka, mendukung angiogenesis, dan merangsang pembentukan kolagen. Struktur polimer hidrogel yang berpori dan terikat silang memungkinkan pelepasan obat terkontrol melalui pengaturan porositas, tingkat *crosslinking*, dan kemampuan *swelling*-nya.<sup>26</sup> Pada luka bakar, air dalam hidrogel berperan sebagai agen pendingin untuk menurunkan suhu, mengurangi nyeri, mencegah infeksi, serta meminimalisasi kerusakan jaringan lebih lanjut.<sup>59</sup>

## 2.9. Model Hewan Uji

Model hewan memainkan peran penting dalam penelitian molekular dan selular, terutama untuk terapi yang belum diketahui keamanannya. Rodensia banyak digunakan dalam penelitian luka bakar karena siklus hidup pendek hasil penelitian dapat direproduksi, serta potensi translasi ke aplikasi klinis.<sup>60</sup> Tikus sering digunakan karena biaya perawatan yang relatif rendah, mudah ditangani, membutuhkan sedikit ruang, memungkinkan eksperimen dilakukan terhadap jumlah hewan yang besar untuk mendapatkan hasil yang cepat, serta memiliki karakteristik penyembuhan luka yang lebih cepat.<sup>61</sup> Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) adalah salah satu strain tikus yang sering digunakan dalam penelitian farmakologi dan toksikologi karena kemiripannya dengan manusia dan mamalia lain.<sup>62</sup> Akan tetapi, kulit tikus memiliki perbedaan anatomi dan sedikit perbedaan mekanisme penyembuhan luka dibandingkan manusia. Tikus memiliki folikel rambut dan otot *panniculus carnosus* yang menyebabkan luka pada tikus lebih cepat sembuh. Sementara itu, tahap maturasi luka tikus dimediasi oleh mekanisme kontraksi, bukan epitelialisasi.<sup>61</sup> Meskipun demikian, tikus Wistar dipilih karena dapat memberikan gambaran respon inflamasi akibat luka bakar yang komprehensif.

Studi meta-analisis terhadap model hewan dengan luka bakar menunjukkan peningkatan signifikan mediator inflamasi secara sistemik, seperti IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, IL12p70, IL-17, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , CXCL1 (GRO $\alpha$ ), CXCL2, CXCL8 (IL-8), CCL2 (MCP-1), G-CSF, PGE2, TGF- $\beta$ 1, VEGF-A, c-reactive protein (CRP), histamine, HMGB1, dan nitric oxide (NO). Sementara di jaringan luka, terjadi

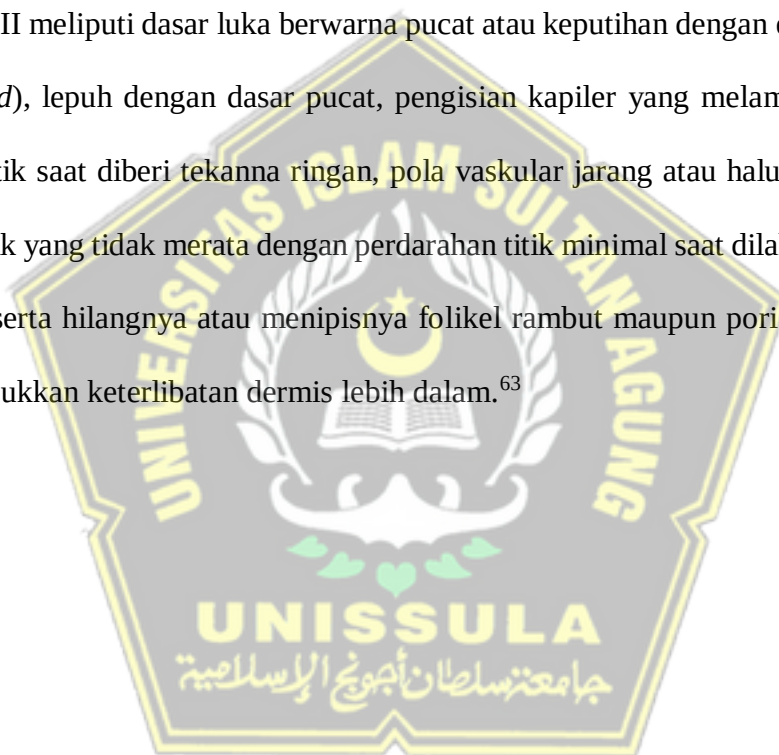
peningkatan kadar IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , CXCL1, CXCL2, CCL2, CCL3, EGF, FGF2, TGF- $\beta$ 1, VEGFA, dan NO.<sup>28</sup> Kadar TNF- $\alpha$  pada rodensia umumnya mulai meningkat 24 jam setelah luka bakar, dan memuncak pada hari ke-3 sebelum kembali normal di hari ke-10.<sup>29</sup> Penelitian luka bakar direkomendasikan menggunakan tikus Wistar jantan karena menghindari bias akibat kromosom seks dan sistem hormon tikus betina yang dapat memengaruhi respon imun.<sup>28</sup>

## 2.10. Induksi Luka Bakar dengan Logam Panas

Pada induksi luka bakar dengan logam panas, kedalaman luka bakar yang dihasilkan pada model tikus bergantung pada beberapa faktor, seperti suhu kulit, siklus pertumbuhan rambut tikus, bahan, suhu, dan berat batang logam, serta durasi induksi. Guo et al (2017) dalam studinya melaporkan bahwa logam dengan suhu 75°C, berat 300 g, dan durasi 10 detik dapat menghasilkan luka bakar derajat IIb pada tikus galur Sprague-Dawley. Pada penelitian tersebut, alat induksi luka bakar terdiri atas unit daya WD 1000 berkapasitas 80 watt yang menyalurkan arus stabil ke *soldering pencil*. Ujung solder diganti dengan kepala batang aluminium berdiameter 20 mm yang dilengkapi cincin isolasi tambahan sehingga menghasilkan berat total 300 g saat diaplikasikan ke punggung tikus. Untuk pemantauan suhu, sebuah lubang kecil dibuat 2 mm di atas permukaan kontak kepala aluminium dan dipasang probe termometer tipe K untuk mengukur temperatur aktual saat kontak. Analisis mikroskopik menggunakan pewarnaan hematoxylin-eosin (HE) dilakukan untuk mengonfirmasi ketepatan metode induksi luka bakar. Hasilnya menunjukkan bahwa suhu 75°C menyebabkan luka bakar *deep*

*partial-thickness* yang melibatkan epidermis dan dermis dalam dengan serabut kolagen abnormal dan folikel rambut yang mengalami degenerasi, tanpa melibatkan hipodermis.<sup>61</sup>

Penelitian ini menggunakan metode induksi luka bakar derajat II mengikuti metode Guo *et al.* (2017) dan evaluasi histologi jaringan luka bakar derajat II berdasarkan metode Guo *et al.* (2020). Kriteria dermoskopik yang mendukung derajat II meliputi dasar luka berwarna pucat atau keputihan dengan eritema bercak (*mottled*), lepuh dengan dasar pucat, pengisian kapiler yang melambat lebih dari tiga detik saat diberi tekanna ringan, pola vaskular jarang atau halus berupa garis atau titik yang tidak merata dengan perdarahan titik minimal saat dilakukan tusukan halus, serta hilangnya atau menipisnya folikel rambut maupun pori kelenjar yang menunjukkan keterlibatan dermis lebih dalam.<sup>63</sup>



## BAB III

### KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

#### 3.1. Kerangka Teori

Aktivitas penyembuhan luka bakar terdiri atas fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Luka bakar memicu pelepasan mediator inflamasi dan ROS, menstimulasi kemotaksis leukosit seperti neutrofil dan monosit ke situs luka. Neutrofil berperan dalam membersihkan jaringan nekrosis dan patogen melalui fagositosis dan pelepasan ROS. Sementara itu, monosit berdiferensiasi menjadi makrofag M1 yang bersifat proinflamasi, melepaskan ROS dan TNF- $\alpha$  dalam jumlah besar. Jaringan nekrosis juga melepaskan molekul DAMP dan PAMP yang mengaktifasi persinyalan jalur NF- $\kappa$ B. Aktivasi jalur NF- $\kappa$ B menginisiasi pelepasan sitokin pro-inflamasi seperti IL-6 dan TNF- $\alpha$ .<sup>37</sup>

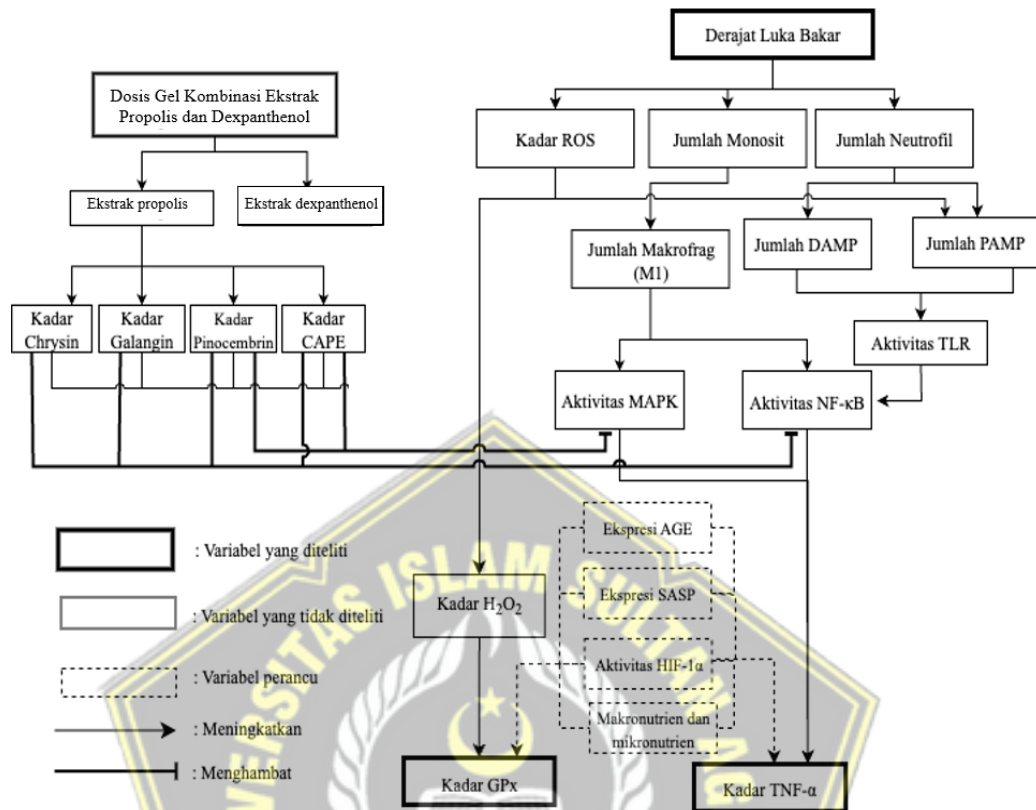
Pelepasan ROS berlebih seperti hidrogen peroksida menurunkan kadar enzim antioksidan endogen seperti GPx. Hal ini menyebabkan inhibisi transisi fase inflamasi ke fase selanjutnya. Pada fase proliferasi, ROS dalam kadar moderat berperan dalam menginduksi migrasi keratinosit di tepi luka bersama faktor pertumbuhan dan sinyal mekanik. Kondisi hipoksia lokal mengaktifkan *hypoxia-inducible factors-1 $\alpha$*  (HIF-1 $\alpha$ ) yang meningkatkan VEGF, sehingga bersama TNF- $\alpha$  dan ROS mempercepat pembentukan pembuluh darah baru. Makrofag yang telah mengalami transisi fenotipe menjadi M2 berperan besar dengan mensekresikan VEGF, TGF- $\beta$ , MMP, serta mempertahankan kadar TNF- $\alpha$  yang cukup untuk

mendukung remodeling vaskular. Pada fase akhir remodeling, fibroblas menggantikan kolagen tipe III dengan kolagen tipe I. Kadar ROS berlebihan pada fase ini dapat mengganggu kualitas kolagen, sementara TNF- $\alpha$  yang tidak terkontrol dapat memicu fibrosis berlebihan.<sup>64</sup>

Proses penyembuhan luka normal bersifat dinamis dan ditopang oleh berbagai mekanisme kompensasi, namun luka dapat menjadi luka kronis karena adanya faktor internal dan eksternal. Luka kronis banyak terjadi pada lansia dan penderita diabetes, ditandai dengan kulit yang mengalami atrofi, berkurangnya matriks dermal, dan meningkatnya sel senesens. Sel-sel ini menghasilkan *senescence-associated secretory phenotype* (SASP) yang banyak mengandung sitokin proinflamasi dan protease, sehingga memperkuat inflamasi dan memperburuk kerusakan jaringan. Diabetes memperburuk keadaan melalui hiperglikemia kronis, pembentukan AGEs, disfungsi leukosit, serta kerusakan mikrovaskular yang menyebabkan hipoksia jaringan. Faktor-faktor ini menghambat angiogenesis, rekrutmen sel progenitor endotel, serta memperburuk stres oksidatif. Selain itu, infeksi kronis dapat mempertahankan siklus inflamasi dan memperburuk kronisitas luka.<sup>57</sup> Kondisi hipoksia sementara mengaktifkan jalur HIF-1 $\alpha$  yang merangsang respons imun, tetapi hipoksia kronis justru menghambat proliferasi sel, angiogenesis, dan remodeling, sehingga menunda penyembuhan luka bakar.<sup>65</sup> Makronutrisi dan mikronutrisi berperan penting di setiap tahap penyembuhan luka. Protein diperlukan dalam sintesis kolagen dan ECM, sementara arginin mendukung aktivitas makrofag. Lipid dan karbohidrat menyediakan sumber energi serta membantu penyerapan vitamin larut lemak (A, D, E, K) yang berperan penting

dalam regulasi sistem imun, stres oksidatif, dan koagulasi. Kondisi malnutrisi menghambat pelepasan sitokin dan respon imun, meningkatkan risiko infeksi, serta memperburuk penyembuhan luka.<sup>66</sup>

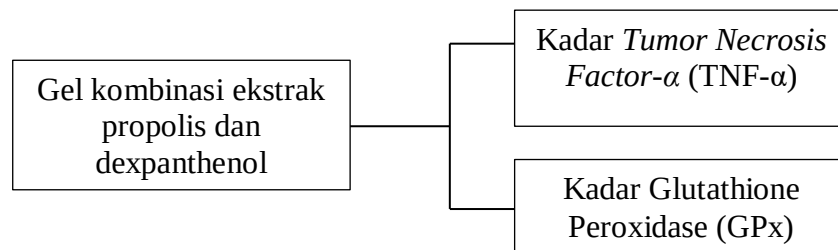
Propolis dan Dexpanthenol diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi dan antioksidan. Propolis mengandung senyawa bioaktif seperti chrysin, galangin, pinocembrin, dan *Caffeic acid phenethyl ester* (CAPE). Keempat senyawa tersebut diketahui menghambat aktivasi persinyalan NF- $\kappa$ B, menghambat jalur lipoksigenase metabolisme asam arakidonat yang dipicu oleh stres oksidatif dan infeksi.<sup>21,67,68</sup> Flavanone pinocembrin dan CAPE diketahui mampu menghambat fosforilasi p38 MAPK, sehingga menghambat aktivasi TNF- $\alpha$ .<sup>67</sup> Aktivitas antioksidan flavonoid propolis dimediasi oleh modulasi persinyalan Nrf. Kandungan propolis seperti chrysin, galangin, dan pinocembrin mengaktifkan persinyalan Nrf2, meningkatkan ekspresi HO-1 dan NQO1, serta menekan kadar iNOS dan NOS.<sup>32</sup> Pinocembrin diketahui mampu menekan ROS melalui peningkatan ekspresi enzim antioksidan seperti GPx, sekaligus menurunkan kadar ROS dan melindungi mitokondria melalui persinyalan sumbu ERK1/2-Nrf2. Selain itu, CAPE dilaporkan mampu meningkatkan persinyalan Keap1/Nrf2/ARE dan menginduksi HO-1 untuk menekan ROS.<sup>67</sup> Sementara Dexpanthenol diketahui memiliki aktivitas antioksidan dengan menurunkan kadar MDA dan meningkatkan aktivitas SOD. Dexpanthenol dilaporkan dapat meningkatkan persinyalan Nrf2/HO-1 yang berdampak pada penekanan stres oksidatif.<sup>69</sup>



### Gambar 3.1 Kerangka Teori

Gambar 3.1 menggambarkan kerangka teori pada penelitian ini. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu gel kombinasi ekstrak propolis dan Dexpanthenol, sementara variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar TNF- $\alpha$  dan GPx pada jaringan kulit tikus Wistar.

### 3.2. Kerangka Konsep



**Gambar 3.2** Kerangka Konsep

### 3.3. Hipotesis Penelitian

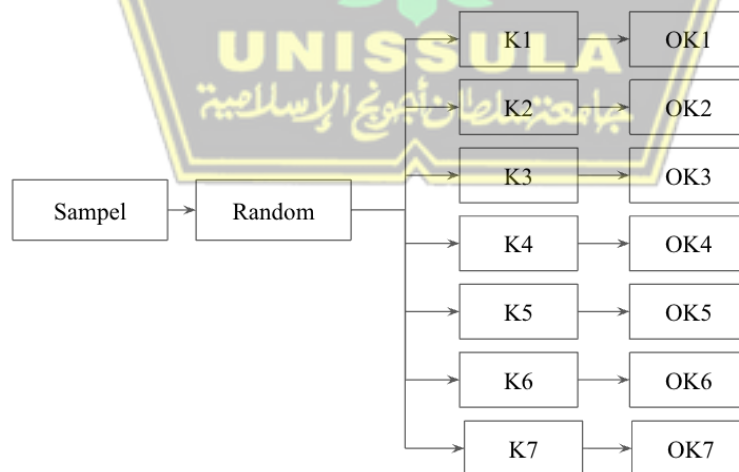
Terdapat pengaruh pemberian gel kombinasi ekstrak propolis dan Dexpanthenol terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan GPx pada jaringan kulit tikus jantan Wistar dengan luka bakar derajat II.

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan uji eksperimental *in vivo* pada tikus Wistar jantan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian gel kombinasi ekstrak propolis (Propoelix®) dan Dexpanthenol terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan GSH dalam penyembuhan luka bakar derajat II. Penelitian dilakukan dengan metode *Post Test Only Control Group Design*, yaitu pengukuran kadar TNF- $\alpha$  dan GSH hanya dilakukan setelah pemberian perlakuan. Pemberian perlakuan dilakukan selama 7 hari, sesuai dengan lama fase inflamasi hingga proliferasi awal pasca luka bakar. Penelitian ini dilakukan terhadap 7 kelompok hewan uji (Gambar 4.1).



**Gambar 4.1** Skema Rancangan Penelitian

## Keterangan:

- K1 : Kontrol sehat (Tikus sehat diberi pakan standar dan tanpa induksi luka bakar derajat II dan tanpa perlakuan).
- K2 : Kontrol negatif (Tikus diberi pakan standar, induksi luka bakar, dan *base gel*).
- K3 : Kontrol positif (Tikus diberi pakan standar, induksi luka bakar, dan silver sulfadiazine).
- K4 : Perlakuan 1 (Tikus diberi pakan standar, induksi luka bakar, dan gel ekstrak propolis (Propoelix®) 10%).
- K5 : Perlakuan 2 (Tikus diberi pakan standar, induksi luka bakar, dan gel Dexpanthenol 5%).
- K6 : Perlakuan 3 (Tikus diberi pakan standar, induksi luka bakar, dan kombinasi gel ekstrak propolis (Propoelix®) 5% dan Dexpanthenol 2,5%).
- K7 : Perlakuan 4 (Tikus diberi pakan standar, induksi luka bakar, dan kombinasi gel ekstrak propolis (Propoelix®) 10% dan Dexpanthenol 5%).
- OK1 : Observasi kelompok tikus sehat
- OK2 : Observasi kelompok kontrol negatif
- OK3 : Observasi kelompok kontrol positif
- OK4 : Observasi kelompok perlakuan 1
- OK5 : Observasi kelompok perlakuan 2
- OK6 : Observasi kelompok perlakuan 3
- OK7 : Observasi kelompok perlakuan 4

## 4.2. Populasi dan Sampel Penelitian

### 4.2.1. Populasi Subjek Penelitian

Penelitian ini menggunakan populasi hewan uji berupa tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan sehat usia 3–4 bulan dengan bobot 180–220 g. Penelitian ini menggunakan tikus Wistar yang diperoleh dari laboratorium hewan percobaan PT. Kemuning. Tikus dipelihara dengan pakan pellet terstandar dan air minum berupa air putih suhu ruang. Tikus menjalani adaptasi selama 7 hari di *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL), Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang sebelum diberi perlakuan.

### 4.2.2. Sampel Penelitian

#### 4.2.2.1. Kriteria Inklusi Subjek Penelitian

- a. Tikus Wistar Jantan sehat  
(gerak aktif, makan dan minum cukup, tidak ada kelainan morfologi )
- b. Rentang usia 3–4 bulan
- c. Berat badan 180–300 g
- d. Tidak memiliki cacat atau luka

#### 4.2.2.2. Kriteria *Drop Out*

Tikus yang selama penelitian mengalami sakit atau mati, atau gagal diinduksi luka bakar.

#### 4.2.2.3. Kriteria Eksklusi

Tikus yang gagal diinduksi luka bakar atau mengalami mortalitas sebelum akhir perlakuan.

#### 4.2.2.4. Besar Sampel

Sampel minimal per kelompok uji ditentukan berdasarkan rumus Federer<sup>72</sup> dengan ketentuan:

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

Keterangan:

- t = jumlah kelompok perlakuan
- n = jumlah replikasi per kelompok

Pada penelitian ini, jumlah kelompok adalah 7, sehingga jumlah tikus minimal per kelompok adalah

$$(7-1)(n-1) \geq 15$$

$$(6)(n-1) \geq 15$$

$$n \geq 3,5 \sim n = 4$$

Total jumlah minimal sampel yang dibutuhkan adalah 28 ekor tikus Wistar. Untuk mengantisipasi kemungkinan kehilangan sampel selama periode penelitian, dilakukan koreksi dengan rumus:  $n / 1-DO$ <sup>73</sup>, dimana proporsi unit eksperimen yang hilang atau *drop out* sebanyak 10%, maka :

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

$$n = 4 / 1-10\%$$

$$n = 4,4 \sim 5$$

Jumlah sampel per kelompok adalah 5 dan total tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah 35 ekor.

#### **4.2.3. Teknik Pengambilan Sampel**

Sampel diambil menggunakan metode *simple random sampling*, yaitu teknik pengambilan sampel di mana setiap anggota populasi memiliki peluang yang sama untuk terpilih sebagai sampel.

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

##### **4.3.1. Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah gel ekstrak kombinasi propolis dan Dexpanthenol dengan variasi dosis rendah (5% gel ekstrak propolis dan 2,5% Dexpanthenol) dan tinggi (10% gel ekstrak propolis dan 5% Dexpanthenol).

##### **4.3.2. Variabel Terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar  $\text{TNF-}\alpha$  dan GPx yang berasal dari jaringan kulit tikus.

### 4.3.3. Definisi Operasional

#### 4.3.3.1. Dosis Gel Kombinasi Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol

Dosis Gel Kombinasi Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol didefinisikan sebagai dosis yang terdiri dari:

- a. Ekstrak propolis (Propoelix®) 5% + Dexpanthenol 2,5%
- b. Ekstrak propolis (Propoelix®) 10% + Dexpanthenol 5%

Ekstrak etanol propolis (Propoelix®) diperoleh dari *Health and Happiness International* (HDI) dalam bentuk serbuk ekstrak kering (*freeze-dried extract*) diformulasikan bersama Dexpanthenol dari Merck dalam *base gel* HPMC. Gel sejumlah 200 mg diaplikasikan pada kulit punggung tikus jantan Wistar model luka bakar derajat II sekali sehari selama 7 hari.

Satuan: mg (miligram)

Skala: Ordinal

#### 4.3.3.2. Kadar TNF- $\alpha$

Kadar TNF- $\alpha$  pada penelitian ini yaitu kadar TNF- $\alpha$  dalam sampel jaringan kulit tikus Wistar, baik pada tikus yang diinduksi luka bakar dan diberi perlakuan maupun tidak diinduksi dan tidak diberi perlakuan. Pemeriksaan kadar TNF- $\alpha$  dilakukan dengan metode ELISA.

Satuan: pg/mL

Skala: Rasio

#### 4.3.3.3. Kadar GPx

Kadar GPx pada penelitian ini yaitu kadar GPx dalam sampel jaringan kulit tikus Wistar, baik pada tikus yang diinduksi luka bakar dan diberi perlakuan maupun tidak diinduksi dan tidak diberi perlakuan. Pemeriksaan kadar GPx dilakukan dengan metode ELISA.

Unit: pg/mL

Skala: Rasio

#### 4.4. Alat dan Bahan Penelitian

##### 4.4.1. Alat

1. Kandang tikus dengan ventilasi baik
2. Tempat minum dan wadah pakan
3. Pisau cukur manual atau mesin pencukur bulu
4. Timbangan digital
5. Sarung tangan
6. Pipet mikro
7. Tabung *Eppendorf*
8. Spektrofotometer
9. ELISA reader
10. Pinset
11. Freezer suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  atau  $-80^{\circ}\text{C}$
12. *Centrifuge*

13. Gelas kimia
14. *Microplate*
15. Komputer dan *software* analisis data
16. Vortex
17. Pisau scalpel
18. pH meter
19. Mikrotom
20. Mikroskop cahaya
21. Rak pewarnaan (*staining rack*)
22. Gelas objek (*object glass*)
23. Kaca penutup (*cover glass*)
24. Botol atau bejana pewarnaan
25. Pipet tetes
26. Oven atau inkubator (untuk mengeringkan preparat)
27. Parafin dispenser
28. Cetakan parafin (*embedding mold*)
29. Kaset jaringan (*tissue cassette*)
30. Pisau mikrotom (*microtome blade*)
31. *Hot plate*
32. *Forceps* logam halus
33. Wadah deparafinasi dan rehidrasi (xylene & alkohol bertingkat)
34. *Cover slip mounting tool*

#### 4.4.2. Bahan

- a. 35 ekor tikus Wistar jantan
- b. Pakan standar Tikus Bravo 512
- c. Krim depilatori komersial (Veet®)
- d. Ekstrak Propolis (Propoelix®) diperoleh dari *Health and Happiness International* (HDI)
- e. Dexpanthenol *Pharmaceutical Grade* diperoleh dari Merck
- f. Basis gel yang dibuat di laboratorium IBL
- g. Krim Silver Sulfadiazine 1%
- h. *Rat ELISA kit reagen* TNF- $\alpha$  (BTLab®, Shanghai, China)
- i. *Rat ELISA kit reagen* GPx (BTLab®, Shanghai, China)
- j. Pewarna hematoksilin dan eosin
- k. Alkohol (100%, 95%, dan 70%)
- l. Xylena
- m. Parafin cair
- n. Larutan formalin 10%
- o. Alkohol asam 1%
- p. Larutan amonia 0.2%
- q. Aquades
- r. Media perekat berbasis xylena

## 4.5. Prosedur Penelitian dan Alur Kerja

### 4.5.1. Perolehan *Ethical Clearance*

*Ethical clearance* penelitian diajukan kepada Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

### 4.5.2. Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol

Penelitian ini menggunakan ekstrak propolis dan Dexpanthenol yang berasal dari sumber komersial untuk menjamin konsistensi mutu, kandungan bahan aktif, serta standar keamanan dan kemurnian yang telah diverifikasi produsen. Ekstrak propolis (Propoelix®) diperoleh dari *Health and Happiness Internasional* (HDI), sedangkan Dexpanthenol diperoleh dari Merck.

### 4.5.3. Metode Ekstraksi Propolis

Ekstrak propolis (Propoelix®) berasal dari lebah madu yang mengumpulkan resin dari pohon poplar dan tanaman lokal. Ekstrak propolis (Propoelix®) dilengkapi dengan *certificate of analysis* (COA) dan memiliki tingkat kemurnian 100%. Ekstrak propolis (Propoelix®) dihasilkan melalui teknik ekstraksi cair-cair (*liquid-liquid extraction*) menggunakan sistem *Continuous Multistage Counter-Current Extraction* (CMCE). Metode ini dipilih karena mampu memproduksi ekstrak dengan kemurnian lebih tinggi serta kandungan senyawa bioaktif yang lebih optimal dibandingkan teknik konvensional.

Pada proses CMCE, campuran propolis mentah dan pelarut etanol 70% yang saling tidak bercampur mengalami kontak secara berulang. Kedua fase tersebut mengalir dalam arah yang berlawanan (*counter-current*) melalui beberapa tahapan (*multistage*), sehingga perpindahan massa berupa senyawa aktif propolis menuju fase pelarut berlangsung lebih efektif. Pendekatan ini dirancang untuk memaksimalkan perolehan senyawa polar dan semi-polar, seperti flavonoid, CAPE, asam sinamat, serta asam ferulat. Setiap tahap ekstraksi dianggap sebagai tahap kesetimbangan ideal, di mana terjadi pemisahan antara dua fase utama: rafinat, yaitu fase yang telah diekstraksi dan mengandung residu tidak larut, serta ekstrak, yaitu fase pelarut yang membawa senyawa bioaktif terlarut dari propolis. Siklus ekstraksi diulang beberapa kali hingga diperoleh hasil yang optimal. Setelah seluruh proses selesai, larutan ekstrak disaring menggunakan kertas saring halus, kemudian pelarut diuapkan pada suhu rendah sekitar 40°C menggunakan *rotary evaporator* hingga terbentuk ekstrak kental. Ekstrak ini kemudian dikeringkan untuk memperoleh bentuk serbuk (*powder extract*), yang selanjutnya dapat diformulasikan ke dalam sediaan gel topikal.

#### 4.5.4. Penetapan Dosis

Dosis topikal ekstrak propolis dan Dexpanthenol dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan penelitian sebelumnya. Ekstrak propolis pada konsentrasi 5% dan 10% dilaporkan mampu memberikan efek penyembuhan luka sekaligus menekan produksi mediator inflamasi dan radikal bebas, sehingga memperkuat potensi terapeutik propolis dalam mendukung penyembuhan luka bakar.<sup>31</sup>

Penelitian terdahulu menunjukkan penggunaan Dexpanthenol dengan dosis 5% selama 7 hari mempercepat penyembuhan luka, meningkatkan neovaskularisasi, serta mengaktivasi fibroblas pada jaringan luka.<sup>25</sup> Berdasarkan penelitian tersebut, penelitian ini menggunakan perlakuan berupa Ekstra propolis dosis 5% dan 10%, serta Dexpanthenol 2,5% dan 5%, baik secara tunggal maupun kombinasi, untuk mengevaluasi efektivitasnya terhadap penyembuhan luka bakar pada tikus Wistar jantan.

#### 4.5.5. Formulasi Gel

Pembuatan gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol dengan cara menambahkan basis gel dengan ekstrak propolis dan dexpanthenol dalam konsentrasi sesuai formulasi. Formula dan komposisi sediaan gel terdiri dari beberapa variasi, yaitu F1 (K4), F2 (K5), F3 (K6), dan F4 (K7). Gel untuk masing-masing kelompok dibuat sejumlah 100 gram. F1 (K4) merupakan gel propolis tunggal 10% yang terdiri atas 10 gram Propoelix® dan 90 gram *base gel*; F2 (K5) yaitu gel panthenol tunggal 5% yang terdiri atas 5 gram Dexpanthenol dan 90 gram *base gel*; F3 (K6) sebagai gel kombinasi dosis rendah terdiri atas 5 gram Propoelix®, 2,5 gram Dexpanthenol, serta 87,5 gram *base gel*; serta F4 (K7) sebagai gel kombinasi dosis tinggi terdiri atas 10 gram Propoelix®, 5 gram Dexpanthenol, serta 85 gram *base gel*.

**Tabel 4.1** Formulasi Gel Kombinasi Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol

| Bahan                            | F1      | F2      | F3      | F4      |
|----------------------------------|---------|---------|---------|---------|
| <i>Base gel</i>                  | Ad 100% | Ad 100% | Ad 100% | Ad 100% |
| Ekstrak Propolis<br>(Propoelix®) | 10%     | -       | 5%      | 10%     |
| Dexpanthenol                     | -       | 5%      | 2,5%    | 5%      |

Keterangan:  
F = Formula

#### 4.5.6. Prosedur Pembuatan Gel Kombinasi Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol

##### 1. Persiapan Bahan

- Siapkan *base gel* dan bahan tambahan formulasi: serbuk HPMC, metil paraben, propil paraben, propilen glikol, parafin cair, dan Tween 80.
- Siapkan ekstrak propolis (Propoelix®) dan Dexpanthenol dengan variasi konsentrasi sesuai kelompok perlakuan:
  - K4: ekstrak propolis (Propoelix®) 10%
  - K5: Dexpanthenol 5%
  - K6: kombinasi ekstrak propolis (Propoelix®) 5% dan Dexpanthenol 2,5%
  - K7: kombinasi ekstrak propolis (Propoelix®) 10% dan Dexpanthenol 5%.

##### 2. Pembuatan *Base Gel*

*Base gel* dibuat dengan mendispersikan HPMC 2,5 gram dalam air panas sambil diaduk hingga mengembang sempurna. Larutan pengawet

yang mengandung 0,02 gram propil paraben dan 0,18 gram metil paraben ditambahkan. Selanjutnya, 10 gram propilen glikol, 5 gram parafin cair, dan 1,08 gram Tween 80 ditambahkan. Campuran diaduk hingga homogen dan membentuk *base gel* yang bening dan stabil.

### 3. Penimbangan Bahan

Timbang *base gel*, ekstrak propolis, dan Dexpanthenol sesuai formulasi menggunakan timbangan digital dengan ketelitian tinggi. Formulasi sediaan gel dibuat dalam batch 100 gram per formula dengan variasi konsentrasi bahan aktif.

### 4. Pencampuran Gel

Ekstrak propolis (Propoelix®) dan Dexpanthenol dicampurkan secara bertahap ke dalam *base gel*. Ekstrak propolis (Propoelix®) dalam bentuk serbuk murni 100% didispersikan terlebih dahulu menggunakan gliserin atau propilen glikol untuk memudahkan pencampuran, sedangkan Dexpanthenol dilarutkan langsung dalam fase air. Campuran diaduk hingga homogen dan pH campuran gel diatur pada rentang 5,5-6,5.

### 5. Pengemasan

Gel yang telah homogen dimasukkan ke dalam wadah steril, ditutup rapat, dan diberi label sesuai kelompok formula (K4-K7).

### 6. Penyimpanan

Sediaan gel disimpan di tempat yang sejuk dan kering, jauh dari paparan sinar matahari langsung.

#### 4.5.7. Persiapan Sebelum Perlakuan

Hewan uji berupa tikus Wistar jantan berumur 3-4 bulan dengan berat 180-300 g diambil secara acak sebanyak 35 ekor. Tikus diadaptasi selama 7 hari sebelum perlakuan di Laboratorium Terpadu *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL), Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang. Tikus diberikan pakan standar Bravo 512 yang mengandung protein kasar 19,5–21,5%, lemak kasar minimal 5%, serat kasar maksimal 5%, dan air maksimal 12%, dengan tambahan kalsium 0,9–1,1% serta fosfor 0,6–0,9%. Air minum berupa akuades diberikan secara *ad libitum* setiap hari.

#### 4.5.8. Induksi Luka Bakar Derajat II

##### 1. Induksi Luka Bakar Derajat II

Tikus ditimbang dan dibius menggunakan ketamin (75 mg/kgBB) secara intramuskular.<sup>74,75</sup> Punggung tikus dicukur dan dibersihkan dengan krim depilatori komersial (Veet®) untuk memastikan area kulit bebas dari rambut halus dan luka bakar dapat diinduksi secara homogen. Luka bakar derajat II dibuat pada area punggung menggunakan kepala batang aluminium berdiameter 20 mm dari perangkat pemanas yang dirancang khusus di laboratorium menggunakan solder, dengan suhu 75°C dan tekanan  $\pm 300$  g selama 10 detik. Pembuatan luka dilakukan dengan jeda lima menit antar-hewan untuk memastikan suhu kepala aluminium tetap stabil.<sup>74</sup>

## 2. Validasi Metode Induksi Luka Bakar

Validasi metode induksi luka bakar derajat II dilakukan dengan analisis makroskopik dan mikroskopik. Analisis makroskopik dilakukan melalui pengambilan gambar pada area luka menggunakan kamera digital. Penggaris diletakkan di samping luka sebagai skala pembanding untuk membantu perhitungan luas luka menggunakan *software* ImageJ versi 1.49v. Pengamatan makroskopik meliputi kemunculan eritema, dan ulserasi.

Analisis mikroskopik dilakukan dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) pada jaringan kulit tikus yang telah dieutanasia. Analisis ini dilakukan pada penelitian pendahuluan untuk menentukan keberhasilan metode dalam menginduksi terbentuknya luka bakar derajat II. Jaringan kulit luka diambil dan difiksasi dalam formalin 10%, kemudian dibenamkan dalam parafin cair, dipotong setebal 5  $\mu\text{m}$ , lalu dikeringkan pada suhu ruang selama 1 hari. Preparat selanjutnya dibersihkan dengan xylene sebanyak 2 kali, lalu direhidrasi secara bertahap menggunakan alkohol dengan konsentrasi menurun (100%, 95%, 70%). Setelah itu, preparat dibilas dengan air dan diwarnai dengan hematoksilin selama 8 menit, kemudian dibilas kembali dengan air mengalir. Jaringan direndam dalam alkohol asam 1% selama 30 detik, dinetralkan dengan larutan amonia 0,2%, lalu diberi pewarna eosin selama 30 detik hingga 1 menit. Preparat selanjutnya didehidrasi kembali dengan alkohol dengan konsentrasi bertingkat (95%–100%). Jaringan lalu dibersihkan dengan xylene, dibersihkan dengan

xylena, dan ditutup menggunakan media perekat berbasis xylena. Analisis histologis terhadap preparat dilakukan di bawah mikroskop cahaya untuk mengamati perubahan struktur jaringan kulit.<sup>74</sup>

#### **4.5.9. Pemberian Perlakuan**

Gel topikal sejumlah 200 mg dioleskan pada area luka bakar sekali sehari selama 7 hari pada tikus perlakuan. Kelompok hewan uji mencakup kelompok kontrol negatif, kontrol positif, kelompok perlakuan yang diberikan gel ekstrak propolis tunggal, kelompok perlakuan yang diberikan gel Dexpanthenol tunggal, dan kelompok perlakuan yang diberikan gel kombinasi ekstrak propolis dan Dexpanthenol. Rasio kombinasi ekstrak propolis dan Dexpanthenol dalam sediaan gel adalah 2:1. Eutanasia dan pengambilan sampel jaringan kulit tikus dilakukan pada hari ke-8 karena mempertimbangkan fase penyembuhan luka yang relevan. Pada hari ke-7, kadar sitokin proinflamasi seperti  $\text{TNF-}\alpha$  dilaporkan masih berada pada kadar yang cukup tinggi dan kadar GPx mulai mengalami peningkatan sehingga mencerminkan transisi dari fase inflamasi menuju proliferasi.<sup>29,30</sup> Dengan demikian, hari ke-8 dinilai menjadi waktu yang optimal untuk mengevaluasi resolusi inflamasi dan pemulihan jaringan pada luka bakar.

#### **4.5.10. Pengambilan Sampel Jaringan Kulit Tikus**

Jaringan kulit diambil dari area luka tikus yang telah dianestesi dan dieutanasia sesuai protokol etis, menggunakan gunting serta pinset steril.

Sampel kemudian dicuci dengan PBS dingin (pH 7,4) untuk menghilangkan sisa darah, ditimbang, lalu diproses lebih lanjut. Potongan jaringan diperkecil dan dihomogenisasi dalam PBS dengan rasio berat jaringan (g) terhadap volume PBS (mL) sebesar 1:9 menggunakan *homogenizer* kaca di atas es. Untuk penghancuran sel yang lebih optimal, suspensi dapat disonikasi dengan *ultrasonic cell disrupter* atau melalui siklus beku-cair. Homogenat yang diperoleh kemudian disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C, sehingga dihasilkan supernatan.

Supernatan yang akan digunakan dalam waktu  $\leq 5$  hari disimpan pada suhu 2–8 °C, sedangkan untuk penyimpanan lebih lama dialikuot dan disimpan pada suhu -20 °C (hingga 1 bulan) atau -80 °C (hingga 3 bulan). Siklus beku-cair berulang harus dihindari karena dapat merusak kualitas sampel. Sebelum dianalisis, sampel perlu diadaptasikan ke suhu ruang dan, bila terdapat endapan, disentrifugasi ulang. Selain itu, penting untuk mencegah terjadinya hemolisis karena dapat memengaruhi akurasi hasil pemeriksaan.<sup>77</sup>

#### 4.5.11. Pemeriksaan kadar TNF- $\alpha$ dan GPx menggunakan ELISA

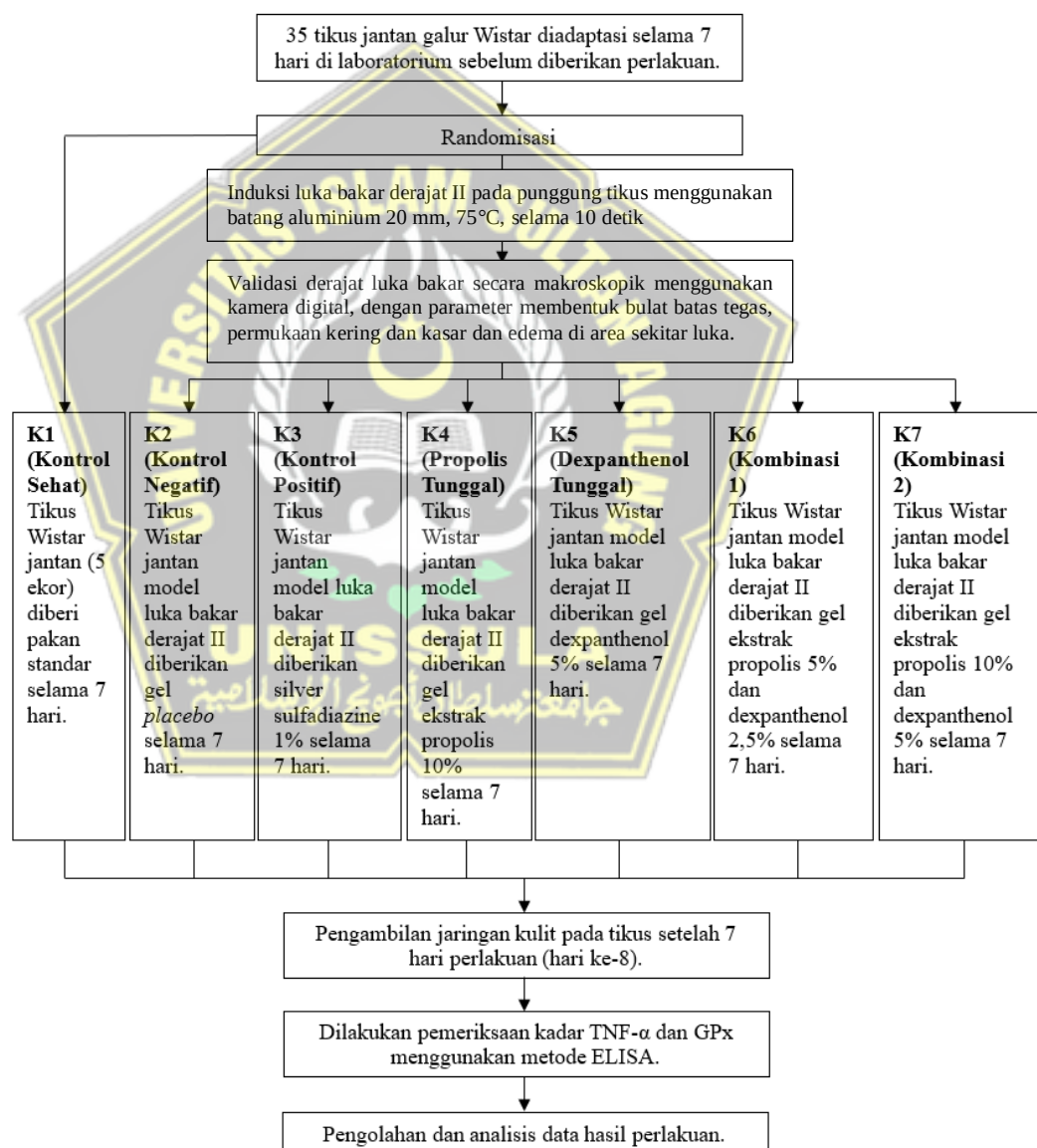
1. Siapkan semua reagen, larutan standar, dan sampel sesuai petunjuk.

Biarkan mencapai suhu ruang sebelum digunakan. Seluruh uji dilakukan pada suhu ruang.

2. Tentukan jumlah strip (microwell) yang dibutuhkan. Pasang strip ke dalam frame. Strip yang tidak digunakan disimpan pada suhu 2–8 °C.
3. Tambahkan 50 µL larutan standar ke sumur standar. (Catatan: jangan tambahkan antibodi pada sumur standar karena larutan standar sudah mengandung antibodi yang terbiotinilasi).
4. Tambahkan 40 µL sampel ke sumur sampel, kemudian tambahkan 10 µL antibodi Rat TNFA atau antibodi Rat GPX1 ke sumur sampel. Selanjutnya tambahkan 50 µL streptavidin-HRP ke sumur sampel dan sumur standar (kecuali blanko). Campur rata, tutup dengan sealer, inkubasi 60 menit pada 37 °C.
5. Lepas sealer, cuci sumur 5 kali dengan buffer pencuci. Tiap kali, rendam sumur dengan 300 µL buffer pencuci selama 30 detik–1 menit. Jika menggunakan washer otomatis, aspirasi/dekantasi tiap sumur lalu cuci 5 kali. Setelah selesai, keringkan dengan menepuk pelat di atas kertas penyerap.
6. Tambahkan 50 µL larutan substrat A ke tiap sumur, lalu 50 µL substrat B ke tiap sumur. Tutup dengan sealer baru, inkubasi 10 menit pada 37 °C dalam kondisi gelap.
7. Tambahkan 50 µL larutan stop ke tiap sumur; warna biru akan segera berubah menjadi kuning.

8. Ukur optical density (OD) tiap sumur segera dengan microplate reader pada panjang gelombang 450 nm, maksimal 10 menit setelah penambahan larutan stop.<sup>77</sup>

#### 4.6. Alur Penelitian



**Gambar 4.2** Alur Penelitian

#### 4.7. Tempat dan Waktu Penelitian

Seluruh tahapan penelitian *in vivo* termasuk adaptasi tikus Wistar, induksi luka bakar, pemberian perlakuan gel, dan pengambilan sampel jaringan kulit dilaksanakan di Laboratorium Terpadu *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL), Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2025. Pengukuran biomarker dilakukan di Laboratorium CITO. Analisis data dan penyusunan naskah dilakukan di PSMIB, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang.

#### 4.8. Analisis Data

Seluruh data dianalisis secara deskriptif menggunakan rerata (mean) dan simpangan baku (SD) untuk masing-masing kelompok. Pengolahan data dilakukan menggunakan perangkat lunak *SPSS for Windows* versi 26 dengan tingkat signifikansi ditetapkan pada  $p < 0,05$ . Uji *Shapiro-Wilk* digunakan untuk menilai normalitas data, sementara homogenitas varians diuji melalui *Levene test*. Data yang memenuhi asumsi distribusi normal dan varians homogen sehingga perbedaan antar kelompok dianalisis menggunakan *One Way ANOVA*. Hasil analisis *One Way ANOVA* menunjukkan data kadar  $\text{TNF-}\alpha$  berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) sehingga dilanjutkan dengan uji *post-hoc Tukey HSD*. Data GPx yang terdistribusi normal tetapi data tidak homogen dianalisis menggunakan metode *Welch ANOVA* dan dilanjutkan uji *Post Hoc Tamhane*.

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol terhadap kadar *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- $\alpha$ ) dan *Glutathione Peroxidase* (GPx) pada model tikus Wistar jantan dengan luka bakar derajat II. Penelitian eksperimental ini dilaksanakan selama 14 hari menggunakan 35 ekor tikus Wistar jantan sebagai hewan uji dan menjalani masa adaptasi di laboratorium selama 7 hari sebelum perlakuan.

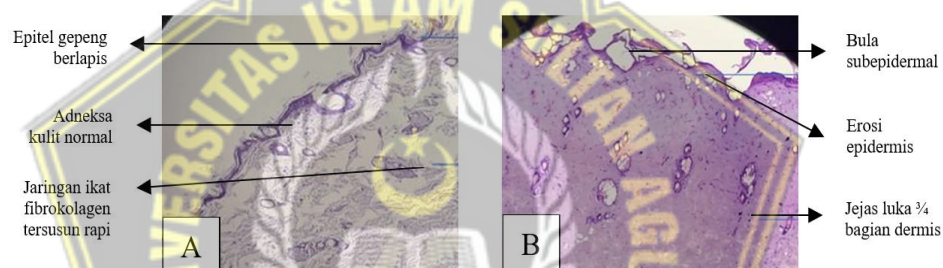
Setelah masa adaptasi, hewan uji dibagi secara acak ke dalam 7 kelompok perlakuan. Induksi luka bakar derajat II dilakukan menggunakan kepala batang aluminium bersuhu 75°C dengan diameter 20 mm yang diaplikasikan pada punggung tikus selama 10 detik sehingga terbentuk luka bakar derajat II (*partial-thickness*) yang melibatkan epidermis dan sebagian dermis.

Pada hari ke-8 pasca induksi, jaringan kulit diambil dari area luka untuk pemeriksaan kadar TNF- $\alpha$  dan GPx. Sebelum pengambilan jaringan, tikus dianestesi dengan ketamin 50 mg secara subkutan 0,3 mL. Setelah euthanasia, jaringan kulit seberat  $\pm 0,6$  g dimasukkan ke tabung konikal berisi PBS steril dan selanjutnya dianalisis biomarker menggunakan metode ELISA. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik untuk menilai perbedaan kadar TNF- $\alpha$  dan GPx antar kelompok, sehingga efektivitas gel kombinasi dalam memperbaiki kondisi

luka bakar melalui penurunan respon inflamasi dan peningkatan aktivitas antioksidan dapat dievaluasi.

#### 5.1.1. Penelitian Pendahuluan Induksi Luka Bakar pada Tikus

Penelitian pendahuluan bertujuan untuk menentukan metode induksi luka bakar pada tikus. Sebanyak enam ekor tikus yang terdiri dari tiga tikus tanpa induksi dan tiga tikus yang mengalami induksi luka bakar diamati melalui pengamatan makroskopik dan mikroskopik dengan pewarnaan HE. Hasil pengamatan mikroskopis disajikan pada Gambar 5.1.



**Gambar 5.1** Gambaran histopatologis jaringan kulit punggung tikus (pewarnaan Hematoksilin–Eosin). (A) Kulit tikus tanpa induksi luka bakar menunjukkan epidermis dan dermis dalam kondisi normal dengan struktur jaringan yang utuh; (B) Kulit tikus dengan luka bakar derajat II memperlihatkan erosi epidermis, pembentukan bula subepidermal, serta jejas luka yang meluas hingga sekitar tiga perempat lapisan dermis

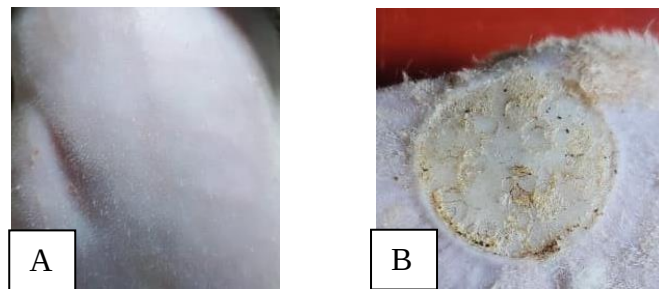
Gambar 5.1 (A) menggambarkan kondisi histologis kulit punggung tikus yang tidak mengalami perlakuan luka. Lapisan epidermis tampak terorganisasi dengan baik dan menunjukkan susunan sel yang kontinu dari lapisan basal hingga lapisan tanduk. Tidak ditemukan tanda kerusakan jaringan, erosi, maupun gangguan integritas epitel. Adneksa kulit, seperti folikel rambut dan kelenjar, terlihat jelas dan berada pada posisi yang normal. Lapisan dermis memperlihatkan susunan serabut kolagen yang teratur, tanpa

indikasi reaksi patologis berupa pembengkakan jaringan, perdarahan, atau infiltrasi sel radang.

Pada Gambar 5.1 (B), tampak perubahan histologis yang signifikan akibat luka bakar derajat II. Lapisan epidermis mengalami kerusakan sebagian hingga hilangnya kontinuitas epitel, disertai adanya perdarahan pada dermis bagian atas dan hilangnya struktur adneksa kulit. Selain itu, terlihat pemisahan antara epidermis dan dermis yang membentuk ruang-ruang subepidermal menyerupai vesikel atau bula. Area kerusakan jaringan meluas hingga sebagian besar ketebalan dermis, dengan susunan jaringan ikat yang tidak lagi teratur, yang mencerminkan dampak cedera panas pada jaringan kulit.

Temuan histopatologis tersebut menunjukkan bahwa luka bakar derajat II menyebabkan kerusakan yang melibatkan lapisan epidermis dan dermis secara luas. Kondisi ini mengakibatkan terganggunya fungsi barrier kulit serta stabilitas lingkungan mikro kulit, sehingga memicu proses inflamasi di area luka. Adanya disrupsi epidermis, perdarahan, dan pembentukan bula menandakan kedalaman cedera termal yang cukup berat dan memengaruhi struktur penunjang kulit.

Pengamatan awal secara makroskopik pada model luka bakar tikus dilakukan melalui pengamatan visual secara langsung terhadap perubahan morfologi permukaan kulit punggung tikus. Hasil pengamatan makroskopik tersebut ditampilkan pada Gambar 5.2.



**Gambar 5.2** Gambaran makroskopik jaringan kulit tikus: (A) Kondisi kulit normal pada tikus; (B) Kondisi kulit dengan induksi luka bakar pada tikus

Gambar 5.2(A) memperlihatkan kulit normal yang tampak halus dan seragam, dengan warna merah muda pucat yang konsisten di seluruh permukaannya. Sebaliknya, Gambar 5.2(B) memperlihatkan perubahan makroskopik yang jelas pada kulit pasca induksi luka bakar yang menunjukkan perubahan makroskopik yang jelas, ditandai oleh terbentuknya lesi berbentuk bulat dengan batas yang tegas berwarna putih dan terlokalisasi, berbeda dengan jaringan sehat di sekitarnya. Permukaan kulit di lokasi lesi tampak kering dan kasar, yang mencerminkan terjadinya koagulasi protein pada lapisan epidermis akibat paparan panas. Terdapat edema atau pembengkakan disekitar area luka yang terjadi akibat peningkatan permeabilitas pembuluh darah di area luka, yang memungkinkan cairan keluar ke jaringan sekitarnya. Edema yang terlihat menunjukkan reaksi inflamasi akut yang biasa terjadi segera setelah luka bakar. Tidak ditemukan lepuhan yang terbentuk pada luka.

Prosedur induksi luka bakar dilakukan dengan menggunakan kepala batang aluminium berdiameter 20 mm yang dipanaskan melalui *hot plate*. Metode ini terbukti mampu menghasilkan cedera termal yang *reproducible* dan menyerupai luka bakar derajat II. Selain perubahan morfologi, cedera ini

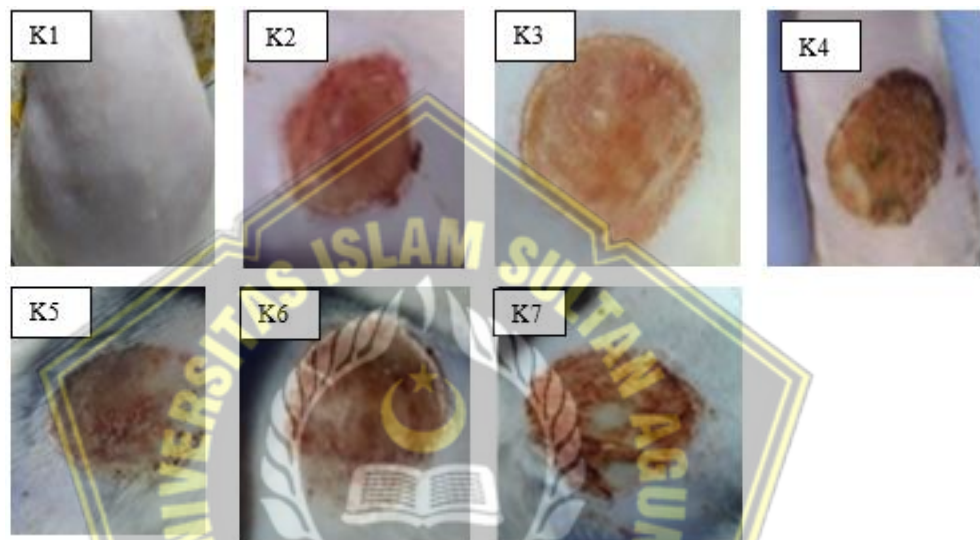
memicu respons biokimia, yang ditunjukkan oleh peningkatan kadar  $\text{TNF-}\alpha$  sebagai indikator inflamasi akut, serta perubahan aktivitas GPx yang mencerminkan ketidakseimbangan stres oksidatif. Disregulasi kedua parameter ini menegaskan keterlibatan inflamasi dan radikal bebas dalam patofisiologi luka bakar. Dengan demikian, model luka bakar tikus ini relevan untuk mengevaluasi dinamika penyembuhan kulit serta menilai efektivitas intervensi terapeutik pada luka bakar derajat II.

#### **5.1.2. Validasi Makroskopis Model Luka Bakar Derajat II**

Validasi model luka bakar dalam penelitian ini dilakukan melalui pengamatan visual makroskopis terhadap area kulit tikus yang telah diinduksi luka bakar derajat II. Pengamatan makroskopis dilakukan melalui perbandingan antara kondisi kulit normal tanpa induksi luka bakar dan kulit tikus yang telah mengalami induksi luka bakar pada hari pertama pascainduksi dengan tujuan menilai perubahan awal. Pengamatan makroskopis juga bertujuan memastikan keseragaman ukuran luka yang dihasilkan pada seluruh subjek penelitian.

Luka bakar dibuat dengan diameter sekitar 20 mm<sup>2</sup> ( $\pm 2$  cm) guna menjamin keseragaman ukuran dan luas luka pada setiap hewan uji. Penyeragaman ini dilakukan untuk mengurangi variasi biologis yang disebabkan oleh perbedaan luas luka, sehingga respons inflamasi serta proses penyembuhan dapat dievaluasi dan dibandingkan secara objektif antar kelompok penelitian.

Secara makroskopik, luka bakar derajat II ditunjukkan oleh munculnya lesi yang berbentuk bulat memiliki batas tegas, perubahan warna kulit menjadi cokelat, serta permukaan luka tampak kering dan mengeras. Validasi induksi luka bakar derajat II pada model tikus melalui pengamatan makroskopik ditunjukkan pada Gambar 5.3.



**Gambar 5.3** Gambaran makroskopik luka bakar derajat II pada tikus pada Hari ke-7 (H7) antar kelompok perlakuan (K1: tikus sehat tanpa induksi luka bakar; K2: luka bakar yang hanya diberi base gel (kontrol negatif); K3: luka bakar + gel silver sulfadiazine 1% (kontrol positif); K4: luka bakar + gel ekstrak propolis 10%. K5: luka bakar + gel dexpantenol 5%; K6: luka bakar + kombinasi gel propolis 5% + dexpantenol 2,5%; K7: luka bakar + kombinasi gel propolis 10% + dexpantenol 5%)

Gambar 5.3 menampilkan perbandingan kondisi luka bakar pada hari ke-7 setelah pemberian gel pada masing-masing kelompok. Pada kelompok kontrol sehat (K1), kulit tetap utuh dan berwarna normal, tanpa tanda inflamasi, pembengkakan, atau kerusakan jaringan. Hal ini menunjukkan bahwa kulit yang tidak mengalami induksi luka bakar mempertahankan integritasnya, mencerminkan kondisi fisiologis yang sehat.

Sebaliknya, kelompok kontrol negatif (K2), yang hanya mengalami luka bakar derajat II tanpa pengobatan, menunjukkan kerusakan lebih parah. Area luka lebih luas, warna kulit gelap, permukaan kering dan mengeras, serta pembentukan krusta tipis terlihat di sebagian besar lesi, menunjukkan fase inflamasi yang aktif. Kerusakan melibatkan epidermis hingga dermis, menurunkan integritas jaringan dan memperlambat proses penyembuhan.

Pada kelompok K3 yang menerima silver sulfadiazine 1%, terlihat beberapa tanda perbaikan. Gel ini lebih berperan sebagai agen antimikroba untuk mencegah infeksi, sementara efeknya pada regenerasi jaringan masih terbatas. Area luka tetap terlihat jelas dengan krusta di sebagian besar permukaan, dan perubahan warna kulit minimal. Beberapa tanda penyembuhan, seperti pengurangan nekrosis, mulai terlihat, namun kemampuan silver sulfadiazine dalam mendukung regenerasi jaringan masih kurang dibandingkan terapi yang lebih fokus pada perbaikan jaringan.

Pada kelompok K4 yang diberi ekstrak propolis 10%, luka masih menunjukkan tanda-tanda peradangan. Warna keseluruhan luka tetap merah, tepi luka kecokelatan, dan terdapat satu area yang agak basah, menunjukkan bahwa regenerasi jaringan belum optimal. Beberapa bagian krusta mulai menipis, namun perbaikan keseluruhan masih terbatas.

Kelompok K5 yang menerima dexpanthenol 5%, luka tampak lebih kering dan warna merah mulai memudar. Batas tepi luka tidak terlalu tegas lagi, menandakan awal proses re-epitelialisasi. Permukaan luka lebih rata dibanding K4, tetapi masih terlihat area yang belum pulih sepenuhnya.

Pada kelompok K6 (propolis 5% + dexpanthenol 2,5%), luka kering dengan permukaan yang menebal. Sebagian area mulai berwarna menyerupai kulit normal, menandakan proses re-epitelialisasi dan regenerasi jaringan yang lebih jelas dibanding perlakuan tunggal.

Sementara itu, kelompok K7 (propolis 10% + dexpanthenol 5%) menunjukkan luka yang sangat kering dengan tekstur kasar, meskipun sebagian area sudah mulai berwarna menyerupai kulit normal. Krusta mulai menipis dan beberapa bagian tampak seperti warna kulit normal, menandakan bahwa proses penyembuhan sedang berjalan meskipun luka belum sepenuhnya pulih.

### **5.1.3. Hasil Pemeriksaan Kadar TNF- $\alpha$ pada Jaringan Kulit**

Pemeriksaan kadar TNF- $\alpha$  dilakukan pada jaringan kulit tikus pada hari ke-21 setelah perlakuan untuk mengevaluasi respon inflamasi antar kelompok penelitian. Rerata kadar TNF- $\alpha$  pada masing-masing kelompok disajikan pada Tabel 5.1.

Hasil analisis ELISA dari jaringan kulit tikus menunjukkan bahwa rerata kadar TNF- $\alpha$  tertinggi diperoleh pada kelompok K6 (Propolis 5% + Dexpanthenol 2,5%) sebesar  $237,48 \pm 11,49$  ng/L, diikuti oleh kelompok K7 (Propolis 10% + Dexpanthenol 5%) sebesar  $237,40 \pm 6,71$  ng/L, kelompok K3 (kontrol positif) sebesar  $233,40 \pm 7,58$  ng/L, kelompok K4 (Propolis 10%) sebesar  $224,46 \pm 6,43$  ng/L, kelompok K5 (Dexpanthenol 5%) sebesar  $222,58 \pm 16,72$  ng/L, kelompok K2 (kontrol negatif) sebesar  $220,54 \pm 9,85$  ng/L, dan terendah pada kelompok K1 (tikus sehat) sebesar  $174,82 \pm 9,59$  ng/L.



**Tabel 5.1** Rata-rata Kadar TNF- $\alpha$  dan Uji *One-Way ANOVA*

| Variabel                                    | Kelompok             |                      |                      |                      |                       |                       |                      | <i>p value</i>      |
|---------------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|
|                                             | K1                   | K2                   | K3                   | K4                   | K5                    | K6                    | K7                   |                     |
|                                             | Mean<br>$\pm$ SD     | Mean $\pm$<br>SD     | Mean $\pm$<br>SD     | Mean $\pm$<br>SD     | Mean $\pm$<br>SD      | Mean $\pm$<br>SD      | Mean $\pm$<br>SD     |                     |
| <b>Kadar TNF-<math>\alpha</math> (ng/L)</b> | 174,82<br>$\pm$ 9,59 | 220,54<br>$\pm$ 9,85 | 233,40<br>$\pm$ 7,58 | 224,46<br>$\pm$ 6,43 | 222,58<br>$\pm$ 16,72 | 237,48<br>$\pm$ 11,49 | 237,40<br>$\pm$ 6,71 |                     |
| <b>Shapiro-Wilk</b>                         | 0,744*               | 0,119*               | 0,492*               | 0,424*               | 0,088*                | 0,691*                | 0,201*               |                     |
| <b>Levene's Test</b>                        |                      |                      |                      |                      |                       |                       |                      | 0,411 <sup>a</sup>  |
| <b>One Way ANOVA</b>                        |                      |                      |                      |                      |                       |                       |                      | <0,001 <sup>b</sup> |

Keterangan:

Keterangan: K1 (kontrol sehat), K2 (kontrol negatif; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan base gel), K3 (kontrol positif; tikus yang diinduksi luka bakar dan diberikan silver sulfadiazine 1%), K4 (perlakuan 1; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel propolis 10%), K5 (perlakuan 2; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel dexpanthenol 5%), K6 (perlakuan 3; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel kombinasi propolis 5% + dexpanthenol 2,5%), K7 (perlakuan 4; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel kombinasi propolis 10% + dexpanthenol 5%)

\*= Distribusi normal ( $p > 0,05$ )

<sup>a</sup> = Data homogen ( $p > 0,005$ )

<sup>b</sup> = Terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ( $p < 0,005$ )

Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data kadar TNF- $\alpha$  pada seluruh kelompok terdistribusi normal dengan nilai  $p > 0,05$ . Uji homogenitas varians menggunakan *Levene's Test* menunjukkan nilai  $p = 0,411$  ( $p > 0,05$ ), yang menandakan bahwa varians antar kelompok bersifat homogen. Oleh karena itu, analisis dilanjutkan menggunakan *One-Way ANOVA*, yang menunjukkan nilai  $p < 0,001$  ( $p < 0,05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna kadar TNF- $\alpha$  antar kelompok. Selanjutnya,

analisis dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* untuk mengetahui perbedaan kadar TNF- $\alpha$  antar pasangan kelompok.

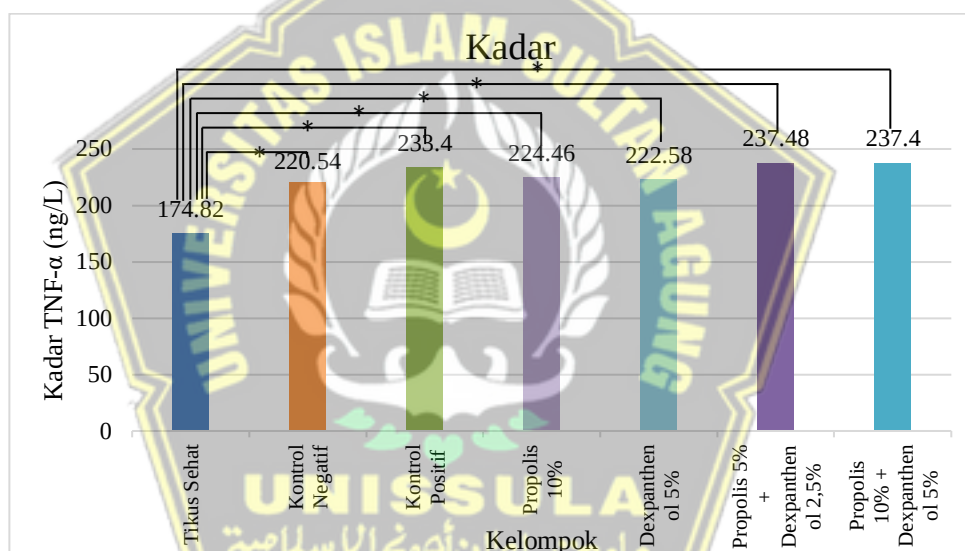
Tabel 5.2 menunjukkan hasil uji *Post Hoc Tukey* terhadap kadar TNF- $\alpha$ , dimana terdapat perbedaan bermakna antara kelompok K1 (tikus sehat) dengan seluruh kelompok perlakuan lainnya, yaitu K2 (kontrol negatif), K3 (kontrol positif), K4 (propolis 10%), K5 (panthenol 5%), K6 (propolis 5% + panthenol 2,5%), dan K7 (propolis 10% + panthenol 5%), dengan nilai  $p < 0,001$  ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa seluruh kelompok dengan induksi luka bakar memiliki kadar TNF- $\alpha$  yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tikus sehat.

Sebaliknya, tidak ditemukan perbedaan bermakna kadar TNF- $\alpha$  antar kelompok yang mengalami luka bakar, baik antara kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan, dengan seluruh nilai  $p > 0,05$ . Tidak adanya perbedaan bermakna tersebut terlihat pada perbandingan antara K2 dengan K3, K4, K5, K6, dan K7, serta pada perbandingan antar kelompok perlakuan lainnya. Kelompok yang mendapat gel kombinasi (K5 dan K6) tidak berbeda signifikan dibanding K2 yang menunjukkan perlakuan kombinasi tidak lebih baik dibandingkan perlakuan tunggal. Dengan demikian, seluruh kelompok yang mengalami luka bakar menunjukkan kadar TNF- $\alpha$  yang relatif setara setelah perlakuan.

**Tabel 5.2** Hasil Uji *Post Hoc Tukey* setelah Perlakuan terhadap rata-rata kadar TNF- $\alpha$

| Kelompok | K1 | K2      | K3      | K4      | K5      | K6      | K7      |
|----------|----|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| K1       | -  | <0,001* | <0,001* | <0,001* | <0,001* | <0,001* | <0,001* |
| K2       |    | -       | 0,454   | 0,996   | 1,000   | 0,165   | 0,169   |
| K3       |    |         | -       | 0,812   | 0,647   | 0,995   | 0,996   |
| K4       |    |         |         | -       | 1,000   | 0,439   | 0,446   |
| K5       |    |         |         |         | -       | 0,286   | 0,292   |
| K6       |    |         |         |         |         | -       | 1,000   |
| K7       |    |         |         |         |         |         | -       |

Keterangan: \*Bermakna  $p < 0,05$



\* = berbeda signifikan ( $p < 0,05$ )

**Gambar 5.4** Perbandingan Kadar TNF- $\alpha$  antar Kelompok Perlakuan

#### 5.1.4. Hasil Pemeriksaan Kadar GPx pada Jaringan Kulit

Pemeriksaan kadar GPx dilakukan pada jaringan kulit tikus pada hari ke-21 setelah perlakuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan pada masing-masing kelompok penelitian. Rerata kadar GPx pada setiap kelompok disajikan pada Tabel 5.3.

**Tabel 5.3** Uji Deskriptif Rata-rata Kadar GPx dan Uji *One-Way ANOVA*

| Variabel                 | Kelompok         |                    |                    |                    |                    |                    |                    | <i>p value</i>      |
|--------------------------|------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
|                          | K1               | K2                 | K3                 | K4                 | K5                 | K6                 | K7                 |                     |
|                          | Mean<br>±SD      | Mean±<br>SD        | Mean±<br>SD        | Mean±<br>SD        | Mean±<br>SD        | Mean±<br>SD        | Mean±<br>SD        |                     |
| <b>Kadar GPx (pg/mL)</b> | 893,22<br>±26,17 | 1435,66<br>± 85,10 | 1554,98<br>± 37,25 | 1425,50<br>± 46,13 | 1465,06<br>± 37,70 | 1545,92<br>±137,50 | 1483,42<br>±251,09 |                     |
| <b>Shapiro-Wilk</b>      | 0,819*           | 0,415*             | 0,781*             | 0,115*             | 0,486*             | 0,392*             | 0,192*             |                     |
| <b>Levene's Test</b>     |                  |                    |                    |                    |                    |                    |                    | <0,001 <sup>a</sup> |
| <b>One Way ANOVA</b>     |                  |                    |                    |                    |                    |                    |                    | <0,001 <sup>b</sup> |

Keterangan:

Keterangan: K1 (kontrol sehat), K2 (kontrol negatif; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan base gel), K3 (kontrol positif; tikus yang diinduksi luka bakar dan diberikan silver sulfadiazine 1%), K4 (perlakuan 1; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel propolis 10%), K5 (perlakuan 2; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel dexpanthenol 5%), K6 (perlakuan 3; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel kombinasi propolis 5% + dexpanthenol 2,5%), K7 (perlakuan 4; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel kombinasi propolis 10% + dexpanthenol 5%)

\*= Distribusi normal ( $p > 0,05$ )

<sup>a</sup>= Data tidak homogen ( $p < 0,005$ )

<sup>b</sup>= Terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ( $p < 0,005$ )

Hasil analisis ELISA dari jaringan kulit tikus menunjukkan bahwa rerata kadar GPx tertinggi diperoleh pada kelompok K3 (kontrol positif) sebesar  $1554,98 \pm 37,25$  pg/mL, diikuti oleh kelompok K6 (Propolis 5% + Dexpanthenol 2,5%) sebesar  $1545,92 \pm 137,50$  pg/mL, kelompok K7 (Propolis 10% + Dexpanthenol 5%) sebesar  $1483,42 \pm 251,09$  pg/mL, kelompok K5 (Dexpanthenol 5%) sebesar  $1465,06 \pm 37,70$  pg/mL, kelompok K2 (kontrol negatif) sebesar  $1435,66 \pm 85,10$  pg/mL, kelompok K4 (Propolis 10%) sebesar  $1425,50 \pm 46,13$  pg/mL, dan terendah pada kelompok K1 (tikus sehat) sebesar  $893,22 \pm 26,17$  pg/mL (Tabel 5.3).

Hasil uji *Shapiro–Wilk* menunjukkan bahwa data kadar GPx pada seluruh kelompok terdistribusi normal dengan nilai  $p > 0,05$ . Namun, hasil uji homogenitas varians menggunakan *Levene's Test* menunjukkan nilai  $p < 0,001$  ( $p < 0,05$ ), yang menandakan bahwa varians antar kelompok tidak homogen. Perbedaan kadar GPx selanjutnya dianalisis menggunakan *Welch ANOVA* untuk menilai perbedaan rerata antar kelompok. Hasil uji *Welch ANOVA* menunjukkan nilai  $p < 0,001$  ( $p < 0,05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna kadar GPx antar kelompok penelitian. Selanjutnya, analisis dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tamhane* karena uji *Levene* menunjukkan varians antar kelompok tidak homogen, sehingga uji *Tamhane* merupakan uji lanjut yang sesuai untuk data berdistribusi normal namun tidak homogen.

Tabel 5.4 menyajikan hasil uji *Post Hoc Tamhane* untuk membandingkan kadar GPx antar kelompok penelitian. Hasil analisis menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok tikus sehat (K1) dengan kontrol negatif (K2), kontrol positif (K3), propolis 10% (K4), dexpanthenol 5% (K5), serta kombinasi propolis 5% dan dexpanthenol 2,5% (K6), dengan nilai  $p < 0,05$ . Temuan ini menunjukkan bahwa seluruh kelompok tersebut memiliki kadar GPx yang berbeda secara signifikan dibandingkan dengan kondisi kulit normal.

Sebaliknya, perbandingan antara kelompok tikus sehat (K1) dengan kelompok kombinasi propolis 10% dan dexpanthenol 5% (K7) tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik ( $p = 0,119$ ). Meskipun

secara deskriptif kadar GPx pada kelompok kombinasi propolis 10% dan dexpanthenol 5% (K7) lebih tinggi dibandingkan kelompok sehat (Gambar 5.6), hasil uji *Post Hoc Tamhane* tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh variasi data yang besar pada kelompok K7, yang ditunjukkan oleh nilai simpangan baku yang tinggi, sehingga menurunkan presisi estimasi perbedaan rerata antar kelompok.

Pada perbandingan antar kelompok perlakuan, tidak ditemukan perbedaan bermakna antara kontrol negatif (K2) dengan seluruh kelompok perlakuan (K3–K7) ( $p > 0,05$ ), yang menunjukkan bahwa pemberian propolis, panthenol, maupun kombinasi keduanya belum menghasilkan peningkatan kadar GPx yang signifikan dibandingkan dengan kondisi luka bakar tanpa terapi standar.

Selain itu, perbandingan antara kelompok kontrol positif (K3) dengan propolis 10% (K4) menunjukkan perbedaan bermakna ( $p = 0,029$ ), sedangkan perbandingan antara kontrol positif (K3) dengan dexpanthenol 5% (K5) serta kelompok kombinasi (K6 dan K7) tidak menunjukkan perbedaan bermakna ( $p > 0,05$ ). Temuan ini mengindikasikan bahwa pemberian propolis 10% memberikan respons peningkatan GPx yang berbeda secara signifikan dibandingkan kontrol positif, sementara perlakuan lainnya menunjukkan efek yang relatif sebanding.

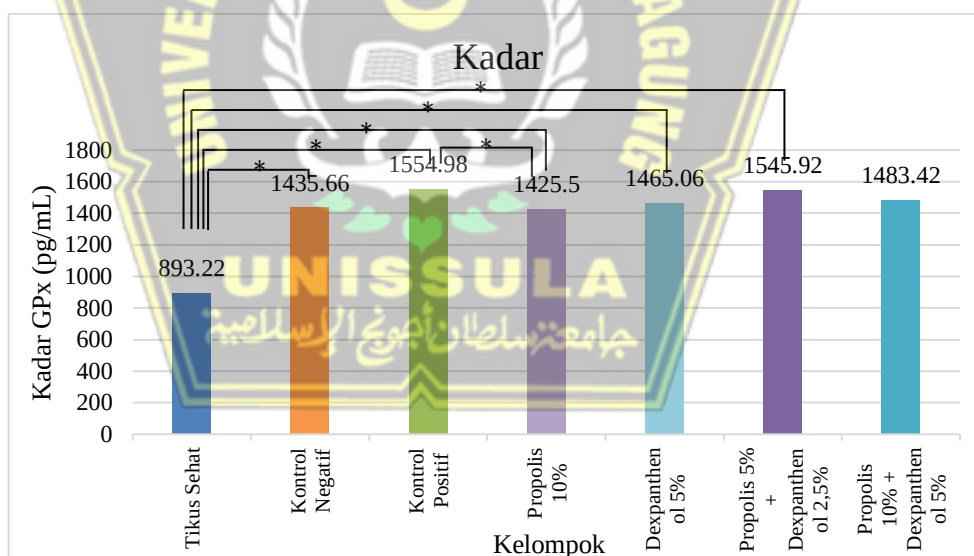
Secara keseluruhan, hasil uji *Post Hoc Tamhane* menunjukkan bahwa variasi kadar GPx antar kelompok terutama dipengaruhi oleh perbedaan

antara kondisi kulit normal dan kulit luka bakar, sedangkan perbedaan antar kelompok perlakuan relatif terbatas dan dipengaruhi oleh variasi data yang cukup besar pada masing-masing kelompok.

**Tabel 5.4** Hasil Uji *Post Hoc Tamhane* setelah Perlakuan terhadap rata-rata kadar GPx

| Kelompok  | K1 | K2     | K3      | K4      | K5      | K6     | K7    |
|-----------|----|--------|---------|---------|---------|--------|-------|
| <b>K1</b> | -  | 0,001* | <0,001* | <0,001* | <0,001* | 0,007* | 0,119 |
| <b>K2</b> |    | -      | 0,489   | 1,000   | 1,000   | 0,982  | 1,000 |
| <b>K3</b> |    |        | -       | 0,029*  | 0,105   | 1,000  | 1,000 |
| <b>K4</b> |    |        |         | -       | 0,983   | 0,938  | 1,000 |
| <b>K5</b> |    |        |         |         | -       | 0,998  | 1,000 |
| <b>K6</b> |    |        |         |         |         | -      | 1,000 |
| <b>K7</b> |    |        |         |         |         |        | -     |

Keterangan: \*Bermakna  $p < 0,05$



Keterangan: \* = berbeda signifikan ( $p < 0,05$ )

**Gambar 5.5** Perbandingan Kadar GPx antar Kelompok Perlakuan

## 5.2. Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi luka bakar derajat II pada tikus Wistar berhasil memicu respons inflamasi dan stres oksidatif yang nyata, sebagaimana tercermin dari peningkatan kadar TNF- $\alpha$  dan perubahan kadar enzim

antioksidan GPx dibandingkan kelompok tikus sehat. Luka bakar derajat II ditandai dengan kerusakan epidermis hingga sebagian dermis, yang memicu pelepasan mediator inflamasi dan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam jumlah besar. Kondisi ini mengaktivasi jalur inflamasi utama seperti *Nuclear Factor kappa B* (NF- $\kappa$ B) dan secara simultan meningkatkan kebutuhan sistem antioksidan endogen untuk menetralkan stres oksidatif yang terjadi.<sup>1</sup>

Peningkatan kadar TNF- $\alpha$  yang signifikan pada kelompok kontrol negatif (K2) dibandingkan dengan kelompok tikus sehat (K1) menunjukkan bahwa luka bakar derajat II memicu respons inflamasi yang kuat.<sup>28</sup> Hasil uji *Post Hoc Tukey* memperkuat temuan ini dengan menunjukkan bahwa K1 berbeda bermakna dengan seluruh kelompok luka bakar (K2–K7) ( $p < 0,001$ ). TNF- $\alpha$  merupakan sitokin proinflamasi utama yang dilepaskan oleh makrofag dan sel imun lain sebagai respons terhadap kerusakan jaringan.<sup>71</sup> Peningkatan TNF- $\alpha$  berperan dalam meningkatkan permeabilitas vaskular, rekrutmen sel inflamasi, serta aktivasi jalur NF- $\kappa$ B, yang apabila berlangsung berkepanjangan dapat menghambat proses penyembuhan luka dan memperberat kerusakan jaringan.<sup>72</sup>

Kelompok kontrol positif (K3) yang diberikan terapi standar silver sulfadiazine 1% menunjukkan kadar TNF- $\alpha$  yang masih relatif tinggi dan tidak berbeda bermakna dibandingkan kontrol negatif. Temuan ini mengindikasikan bahwa meskipun silver sulfadiazine efektif sebagai agen antimikroba pada luka bakar, efeknya terhadap penekanan respons inflamasi sistemik, khususnya penurunan TNF- $\alpha$ , relatif terbatas. Silver sulfadiazine efektif menekan kolonisasi mikroba, namun tidak secara langsung menurunkan produksi sitokin proinflamasi

seperti TNF- $\alpha$ , sehingga respons inflamasi sistemik masih berlangsung.<sup>73</sup> Hal ini sejalan dengan laporan sebelumnya yang menunjukkan bahwa TNF- $\alpha$  pada kelompok SSD tidak berbeda bermakna dari kelompok yang mendapat propolis menunjukkan SSD hanya sedikit menekan TNF- $\alpha$  jaringan.<sup>7</sup> Namun, secara statistik uji *Post Hoc Tukey* menunjukkan bahwa perbedaan kadar TNF- $\alpha$  antara K2-K7 tidak bermakna secara statistik ( $p > 0,05$ ).

Pada kelompok perlakuan tunggal, baik gel ekstrak propolis 10% (K4) maupun gel dexpanthenol 5% (K5), kadar TNF- $\alpha$  berada pada tingkat yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif (K2), namun lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol positif (K3). Kondisi ini menunjukkan bahwa kedua agen tersebut mulai memberikan efek modulasi inflamasi, tetapi belum cukup kuat untuk menekan TNF- $\alpha$  secara signifikan. Propolis diketahui mengandung flavonoid dan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antiinflamasi melalui penghambatan jalur NF- $\kappa$ B dan penurunan ekspresi sitokin proinflamasi.<sup>32</sup> Sementara itu, dexpanthenol berperan dalam meningkatkan regenerasi jaringan dan memperbaiki fungsi sawar kulit, yang secara tidak langsung dapat menurunkan stimulus inflamasi.<sup>22</sup> Durasi perlakuan dalam penelitian ini kemungkinan belum cukup untuk memungkinkan efek antiinflamasi kedua agen mencapai tingkat maksimal, sehingga kadar TNF- $\alpha$  masih berada di antara kelompok kontrol negatif dan kontrol positif. TNF- $\alpha$  biasanya meningkat tajam pada fase awal (hari 1–3), lalu menurun ketika inflamasi mereda dan fase proliferasi meningkat.<sup>74</sup> Pada model luka bakar, kadar TNF- $\alpha$  dan IL-6 memuncak sekitar hari ke-7 lalu turun bertahap

hingga hari ke-28,<sup>75</sup> dan studi meta-analisis hewan luka bakar menunjukkan respon inflamasi dapat menetap hingga  $\geq 2$  minggu.<sup>76</sup>

Kadar TNF- $\alpha$  yang lebih tinggi pada kelompok kontrol positif (K3) dibandingkan kelompok perlakuan tunggal (K4 dan K5) dapat dijelaskan oleh sifat terapi standar yang lebih berfokus pada perbaikan struktural luka dibandingkan modulasi inflamasi secara langsung.<sup>77</sup> Terapi pada K3 berperan mempercepat proses penyembuhan luka dan regenerasi jaringan, yang pada fase tertentu justru dapat disertai dengan aktivasi respon inflamasi terkontrol sebagai bagian dari proses penyembuhan fisiologis. TNF- $\alpha$  pada fase ini tidak hanya berperan sebagai mediator inflamasi, tetapi juga terlibat dalam aktivasi sel imun, angiogenesis awal, dan remodeling jaringan.<sup>77</sup> Oleh karena itu, kadar TNF- $\alpha$  yang lebih tinggi pada K3 mencerminkan respon inflamasi reparatif yang masih berlangsung, bukan inflamasi patologis yang berlebihan.

Kelompok kombinasi propolis 5% dan dexpanthenol 2,5% (K6) serta kombinasi propolis 10% dan dexpanthenol 5% (K7) secara deskriptif menunjukkan kadar TNF- $\alpha$  lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan tunggal maupun kontrol. Meskipun K7 memiliki nilai tertinggi secara deskriptif, perbedaannya tidak signifikan dibanding kelompok lain, hanya berbeda signifikan dengan kelompok sehat (K1,  $p < 0,05$ ). Temuan ini menunjukkan bahwa kombinasi kedua agen tersebut dalam konsentrasi yang digunakan tidak menghasilkan efek aditif atau sinergis dalam menekan respons inflamasi, bahkan berpotensi mempertahankan fase inflamasi lebih lama. Peningkatan kadar TNF- $\alpha$  ini dapat mencerminkan adanya stimulasi imun lokal yang lebih kuat akibat paparan simultan dua bahan

aktif, sehingga respons inflamasi awal masih berlangsung aktif pada waktu pengukuran.<sup>48,78–80</sup>

Propolis diketahui mengandung senyawa bioaktif yang selain bersifat antiinflamasi juga memiliki efek imunomodulator, yang pada fase awal dapat meningkatkan aktivasi makrofag dan produksi sitokin proinflamasi, termasuk TNF- $\alpha$ .<sup>48,78–80</sup> Pada saat yang sama, dexpanthenol berperan utama dalam regenerasi jaringan dan perbaikan sawar kulit, bukan sebagai penekan inflamasi langsung.<sup>81</sup> Kombinasi kedua agen ini kemungkinan meningkatkan aktivitas sel imun pada fase inflamasi awal luka bakar, sehingga kadar TNF- $\alpha$  tetap tinggi pada hari pengamatan.

Pada parameter GPx, hasil penelitian menunjukkan peningkatan kadar GPx yang signifikan pada kelompok luka bakar dibandingkan tikus sehat. Hal ini didukung oleh hasil uji *Post Hoc Tamhane* yang menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok tikus sehat (K1) dan sebagian besar kelompok luka bakar (K2–K6) ( $p < 0,05$ ), yang mengindikasikan bahwa luka bakar secara konsisten mengaktifasi sistem antioksidan endogen.<sup>1</sup> Peningkatan ini mencerminkan aktivasi mekanisme pertahanan antioksidan endogen sebagai respons terhadap peningkatan produksi ROS akibat luka bakar. Luka bakar diketahui menyebabkan stres oksidatif melalui kerusakan sel, infiltrasi neutrofil, dan aktivasi jalur inflamasi, sehingga tubuh meningkatkan ekspresi enzim antioksidan seperti GPx untuk menetralkan ROS.<sup>82</sup>

Pada kelompok kontrol negatif (K2), kadar GPx yang meningkat menunjukkan bahwa sistem antioksidan endogen telah teraktivasi, namun respons

tersebut merefleksikan upaya adaptif tubuh yang belum mampu mengendalikan stres oksidatif secara optimal. Tidak adanya intervensi terapeutik pada kelompok ini menyebabkan lingkungan luka tetap didominasi oleh mediator inflamasi dan radikal bebas, sehingga tubuh mempertahankan kadar GPx yang tinggi sebagai bentuk respons protektif terhadap kerusakan oksidatif lanjutan.<sup>83</sup>

Sebaliknya, kelompok kontrol positif (K3) yang mendapatkan SSD menunjukkan kadar GPx yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif (K2). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian SSD tidak hanya berperan dalam mengendalikan infeksi luka bakar, tetapi juga menciptakan kondisi jaringan yang lebih kondusif bagi aktivasi sistem antioksidan endogen.<sup>84</sup> SSD memiliki aktivitas antimikroba spektrum luas dengan melepaskan ion perak ( $Ag^+$ ) yang berikatan dengan protein dan asam nukleat mikroorganisme, sehingga menghambat replikasi dan menyebabkan kematian sel mikroba. Penurunan kolonisasi bakteri ini berdampak pada berkurangnya pelepasan endotoksin dan mediator inflamasi, yang pada akhirnya menekan aktivasi berlebihan sel inflamasi seperti neutrofil dan makrofag.<sup>51</sup>

Penurunan infiltrasi sel inflamasi tersebut berkonsekuensi pada berkurangnya produksi ROS di area luka. Dalam kondisi stres oksidatif yang lebih terkendali, kebutuhan jaringan untuk mempertahankan ekspresi GPx pada tingkat sangat tinggi menjadi berkurang.<sup>85</sup> Namun demikian, kadar GPx tetap terjaga atau meningkat secara terkontrol sebagai bagian dari sistem pertahanan antioksidan yang mendukung proses netralisasi hidrogen peroksida dan lipid peroksida yang masih terbentuk selama fase penyembuhan luka.<sup>82</sup>

Selain itu, dengan membaiknya kondisi mikro lingkungan luka akibat kontrol infeksi oleh SSD, aktivitas GPx menjadi lebih efektif dalam menjaga keseimbangan redoks seluler. Lingkungan yang lebih stabil memungkinkan regenerasi sel berjalan lebih optimal tanpa paparan stres oksidatif berlebihan yang dapat menghambat proliferasi fibroblas dan keratinosit. Dengan demikian, peran SSD terhadap GPx bukan sebagai induktor langsung enzim antioksidan, melainkan melalui perbaikan kondisi inflamasi dan oksidatif jaringan, sehingga mendukung fungsi GPx dalam proses penyembuhan luka bakar secara lebih efisien dan terarah.<sup>1</sup>

Pada kelompok perlakuan tunggal gel ekstrak propolis 10% (K4), kadar GPx menunjukkan peningkatan dibandingkan tikus sehat (K1) dan berada pada tingkat yang relatif sebanding dengan kelompok kontrol negatif (K2). Temuan ini mengindikasikan bahwa pemberian propolis 10% mampu memodulasi respons stres oksidatif yang ditimbulkan oleh luka bakar derajat II, namun belum cukup kuat untuk menurunkan kebutuhan aktivasi sistem antioksidan endogen secara signifikan. Peningkatan GPx pada kelompok ini mencerminkan masih berlangsungnya pembentukan ROS akibat proses inflamasi dan regenerasi jaringan, sehingga tubuh tetap mempertahankan ekspresi enzim antioksidan sebagai mekanisme protektif.<sup>86</sup>

Secara biologis, propolis diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, asam fenolat, dan *caffeic acid phenethyl ester* (CAPE) yang memiliki aktivitas antioksidan melalui mekanisme penangkapan radikal bebas (*free radical scavenging*) dan penghambatan peroksidasi lipid. Keberadaan senyawa-senyawa ini berpotensi mengurangi beban stres oksidatif di jaringan luka.<sup>87</sup> Namun,

pada konsentrasi dan durasi pemberian dalam penelitian ini, efek antioksidan propolis tampaknya lebih berperan dalam menyeimbangkan produksi ROS daripada secara langsung menekan aktivasi sistem antioksidan endogen. Akibatnya, kadar GPx tetap relatif tinggi sebagai respons adaptif jaringan terhadap stres oksidatif yang masih berlangsung.

Selain itu, propolis juga memiliki sifat imunomodulator yang dapat mempengaruhi aktivitas sel inflamasi.<sup>48,78-80</sup> Pada fase awal penyembuhan luka, aktivasi makrofag dan neutrofil masih diperlukan untuk membersihkan jaringan nekrotik dan memulai proses reparasi. Aktivitas sel-sel ini tetap disertai produksi ROS, sehingga meskipun propolis memberikan perlindungan antioksidan parsial, kebutuhan terhadap GPx sebagai enzim penetralisir hidrogen peroksida dan lipid peroksida masih tetap tinggi.<sup>83</sup> Dengan demikian, profil GPx pada kelompok K4 mencerminkan kondisi stres oksidatif yang mulai terkendali, namun belum sepenuhnya tereduksi.

Pada kelompok perlakuan tunggal gel dexpanthenol 5% (K5), kadar GPx juga menunjukkan peningkatan dibandingkan tikus sehat dan berada pada kisaran yang tidak jauh berbeda dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian dexpanthenol 5% belum secara langsung menurunkan stres oksidatif pada tingkat molekuler, sehingga sistem antioksidan endogen tetap teraktivasi. Peran utama dexpanthenol lebih terfokus pada perbaikan struktural dan metabolisme sel dibandingkan sebagai antioksidan langsung. Dexpanthenol berkontribusi dalam sintesis koenzim A (CoA), yang penting dalam metabolisme energi dan sintesis lipid membran sel. Perbaikan metabolisme sel ini mendukung

proses regenerasi jaringan luka, namun tidak secara langsung menurunkan produksi ROS yang dihasilkan selama fase inflamasi awal luka bakar.<sup>24</sup> Oleh karena itu, tubuh tetap meningkatkan ekspresi GPx untuk menghadapi stres oksidatif yang masih terjadi.

Selain itu, peningkatan aktivitas proliferasi sel dan *remodeling* jaringan yang dipicu oleh dexpanthenol dapat meningkatkan kebutuhan metabolik jaringan, yang pada fase tertentu justru dapat disertai dengan peningkatan produksi ROS mitokondria. Kondisi ini menjelaskan mengapa kadar GPx pada kelompok K5 tetap relatif tinggi, sebagai bentuk adaptasi fisiologis untuk menjaga keseimbangan redoks seluler selama proses penyembuhan luka berlangsung.<sup>40</sup>

Pada kelompok kombinasi propolis 5% dan dexpanthenol 2,5% (K6), kadar GPx menunjukkan peningkatan yang lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan tunggal (K4 dan K5) serta kelompok kontrol negatif (K2), dan berada pada kisaran yang mendekati kelompok kontrol positif (K3). Peningkatan ini mengindikasikan bahwa sistem antioksidan endogen masih teraktivasi secara intensif, mencerminkan kondisi stres oksidatif yang belum sepenuhnya tereduksi pada jaringan luka. Secara biologis, hal ini menunjukkan adanya keseimbangan dinamis antara pembentukan dan penetralan ROS selama proses penyembuhan luka, di mana aktivitas antioksidan propolis dan efek regeneratif dexpanthenol memperbaiki mikro lingkungan luka, namun aktivitas metabolik dan seluler yang masih tinggi berpotensi mempertahankan produksi ROS. Kondisi tersebut mendorong tubuh untuk mempertahankan ekspresi GPx sebagai mekanisme protektif guna menjaga keseimbangan redoks seluler, yang selaras dengan kadar

TNF- $\alpha$  yang masih relatif tinggi dan menandakan bahwa fase inflamasi belum sepenuhnya berakhir.<sup>40</sup>

Pada kelompok kombinasi propolis 10% dan dexpanthenol 5% (K7), kadar GPx merupakan yang tertinggi di antara seluruh kelompok perlakuan. Temuan ini menunjukkan bahwa peningkatan dosis kombinasi tidak menghasilkan efek antioksidan yang lebih efektif, melainkan justru berkorelasi dengan peningkatan kebutuhan akan sistem pertahanan antioksidan endogen. Kadar GPx yang sangat tinggi mengindikasikan bahwa jaringan luka masih mengalami paparan stres oksidatif yang relatif besar atau persisten pada waktu pengamatan.<sup>40</sup>

Secara biologis, peningkatan GPx pada kelompok K7 dapat dikaitkan dengan meningkatnya aktivitas metabolik dan dinamika seluler jaringan yang lebih intens. Proliferasi sel, remodeling matriks ekstraseluler, dan aktivitas mitokondria yang meningkat berpotensi menghasilkan ROS dalam jumlah lebih besar. Dalam kondisi ini, sistem antioksidan endogen, termasuk GPx, diaktivasi untuk mengendalikan akumulasi ROS agar tidak menimbulkan kerusakan oksidatif berlebihan. Kadar TNF- $\alpha$  yang juga lebih tinggi pada kelompok ini mendukung interpretasi bahwa fase inflamasi dan aktivitas seluler masih berlangsung aktif, sehingga kebutuhan terhadap fungsi protektif GPx tetap tinggi.<sup>40</sup>

Selain itu, tingginya GPx pada kelompok K7 dapat mencerminkan peran ROS sebagai molekul pensinyalan dalam proses penyembuhan luka. Pada fase inflamasi-proliferatif, ROS berperan dalam regulasi angiogenesis, migrasi sel, dan remodeling jaringan.<sup>88</sup> Oleh karena itu, peningkatan GPx tidak semata-mata mencerminkan kondisi patologis, tetapi juga merupakan bagian dari mekanisme

adaptif untuk menjaga keseimbangan redoks agar proses penyembuhan berlangsung secara terkendali.<sup>89</sup>

Secara keseluruhan, kombinasi propolis dan dexpanthenol efektif mendukung proses penyembuhan luka bakar derajat II pada tikus Wistar, terlihat dari perbaikan makroskopik seperti pengurangan nekrosis dan peningkatan re-epitelialisasi pada hari ke-7. Meskipun demikian, kadar TNF- $\alpha$  pada kelompok kombinasi tetap relatif tinggi dan tidak berbeda signifikan dibanding perlakuan tunggal atau kontrol positif, menunjukkan bahwa respons inflamasi awal masih aktif. Aktivitas sel imun seperti makrofag dan neutrofil tetap berlangsung untuk membersihkan jaringan nekrotik dan memulai regenerasi, sehingga TNF- $\alpha$  berperan sebagai mediator inflamasi reparatif sekaligus mendukung fase proliferaif.

Di sisi lain, kadar GPx pada kelompok kombinasi juga meningkat dibanding perlakuan tunggal dan kontrol negatif, menandakan aktivasi sistem antioksidan endogen yang masih intens sebagai respons terhadap ROS yang dihasilkan selama fase inflamasi dan proliferaif. Hubungan antara perbaikan makroskopik, TNF- $\alpha$ , dan GPx menunjukkan bahwa kombinasi propolis dan dexpanthenol lebih berperan dalam mendukung regenerasi jaringan secara struktural dan menjaga keseimbangan redoks seluler, namun tidak secara signifikan meningkatkan modulasi inflamasi atau menekan stres oksidatif dibanding penggunaan agen tunggal. Dengan demikian, efek kombinasi bersifat sinergis pada regenerasi jaringan, tetapi terbatas dalam mengurangi respon inflamasi sistemik dan stres oksidatif.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Durasi perlakuan yang terbatas kemungkinan belum sepenuhnya merepresentasikan dinamika respons inflamasi dan stres oksidatif selama seluruh fase penyembuhan luka bakar.  $\text{TNF-}\alpha$  dan GPx merupakan biomarker yang bersifat dinamis dan dapat menunjukkan pola perubahan yang berbeda pada fase inflamasi awal, fase proliferasi, maupun fase *remodeling*.<sup>1</sup> Hasil yang diperoleh pada satu titik waktu pengamatan belum dapat menggambarkan efek terapi secara longitudinal. Selain itu, ukuran sampel yang relatif kecil dapat memengaruhi variabilitas data dan sensitivitas analisis statistik, sehingga perbedaan antar kelompok perlakuan mungkin kurang terdeteksi. Variabilitas respons biologis antar hewan uji juga dapat memengaruhi signifikansi statistik, khususnya pada kelompok dengan variasi data yang besar.

Berdasarkan keterbatasan penelitian ini, penelitian selanjutnya disarankan menggunakan durasi perlakuan dan waktu pengamatan yang lebih panjang serta bersifat longitudinal agar dinamika perubahan biomarker inflamasi dan stres oksidatif dapat diamati secara komprehensif pada setiap fase penyembuhan luka bakar. Pengukuran  $\text{TNF-}\alpha$  dan GPx pada lebih dari satu titik waktu diharapkan mampu menggambarkan pola respons biologis secara temporal dan memberikan evaluasi efektivitas terapi yang lebih akurat. Selain itu, untuk mengurangi pengaruh variabilitas respons biologis antar hewan uji, disarankan peningkatan jumlah sampel atau penerapan desain eksperimental yang lebih ketat dan homogen, sehingga kekuatan statistik dan keandalan interpretasi hasil penelitian dapat ditingkatkan.

Sebagai implikasi, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi propolis dan dexpanthenol berpotensi menjadi terapi adjuvan pada luka bakar derajat II dengan mekanisme menekan inflamasi dan mengendalikan stres oksidatif. Penelitian lanjutan dengan durasi perlakuan yang lebih panjang, ukuran sampel yang lebih besar, serta evaluasi tambahan melalui pemeriksaan histopatologi dan imunohistokimia terhadap  $\text{TNF-}\alpha$  dan GPx pada jaringan kulit diperlukan untuk memperkuat temuan ini dan menjelaskan mekanisme kerja secara lebih mendalam.



## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. Kesimpulan

1. Pemberian gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol pada tikus Wistar jantan model luka bakar derajat II tidak berpengaruh terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan GPx dibandingkan kontrol negatif.
2. Rerata kadar TNF- $\alpha$  terendah terdapat pada tikus sehat (K1) sebesar  $174,82 \pm 9,59$  ng/L, lebih rendah dibandingkan tikus luka bakar tanpa terapi (K2)  $220,54 \pm 9,85$  ng/L dan tikus yang diberikan silver sulfadiazine 1% (K3)  $233,40 \pm 7,58$  ng/L. Pemberian perlakuan gel menampilkan variasi rerata kadar TNF- $\alpha$ , yaitu gel ekstrak propolis 10% (K4)  $224,46 \pm 6,43$  ng/L, gel dexpanthenol 5% (K5)  $222,58 \pm 16,72$  ng/L, kadar TNF- $\alpha$  tertinggi terdapat pada kelompok kombinasi propolis 5% + dexpanthenol 2,5% (K6) yaitu  $237,48 \pm 11,49$  ng/L, diikuti oleh kelompok kombinasi propolis 10% + dexpanthenol 5% (K7)  $237,40 \pm 6,71$  ng/L.
3. Rerata kadar GPx terendah terdapat pada tikus sehat (K1) sebesar  $893,22 \pm 26,17$  pg/mL dibanding seluruh kelompok penelitian, sedangkan pada tikus luka bakar yang tidak diberi terapi (K2) meningkat menjadi  $1435,66 \pm 85,10$  pg/mL. Kadar GPx tertinggi terdapat pada kelompok kontrol positif (K3) yang diberi silver sulfadiazine 1% (K3) mencapai  $1554,98 \pm 37,25$  pg/mL. Pemberian perlakuan gel meningkatkan kadar GPx, yaitu gel propolis 10% (K4)  $1425,50 \pm 46,13$  pg/mL, gel dexpanthenol 5% (K5)

1465,06  $\pm$  37,70 pg/mL, kombinasi propolis 5% + dexpanthenol 2,5% (K6) 1545,92  $\pm$  137,50 pg/mL, dan kombinasi propolis 10% + dexpanthenol 5% (K7) 1483,42  $\pm$  251,09 pg/mL.

4. Tidak terdapat perbedaan signifikan kadar TNF- $\alpha$  dan GPx antar kelompok luka bakar (K2–K7), sedangkan tikus sehat (K1) memiliki kadar TNF- $\alpha$  dan GPx lebih rendah secara statistik dibandingkan seluruh kelompok luka bakar ( $p < 0,05$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa kondisi luka bakar memicu peningkatan respons inflamasi dan aktivitas antioksidan, namun variasi perlakuan pada kelompok luka bakar belum memberikan perbedaan yang bermakna terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan GPx.

## 6.2. Saran

1. Durasi pemberian perlakuan topikal sebaiknya diperpanjang untuk memungkinkan pemantauan respons inflamasi dan aktivitas antioksidan hingga fase penyembuhan yang lebih lanjut.
2. Pengambilan sampel pada beberapa titik waktu berbeda dianjurkan agar perubahan kadar biomarker TNF- $\alpha$  dan GPx sepanjang proses penyembuhan luka dapat dipantau secara lebih akurat.
3. Peningkatan jumlah hewan uji disarankan untuk mengurangi pengaruh variasi data dan meningkatkan sensitivitas analisis statistik antar kelompok.
4. Standarisasi kondisi hewan uji dan prosedur perlakuan perlu diperkuat untuk meminimalkan variasi respons biologis individu dan memastikan konsistensi data antar kelompok.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Chen R, Xu H, Li X, Dong J, Wang S, Hao J, Liang G. Role of oxidative stress in post-burn wound healing. *Burns Trauma* 2025; 13: tkaf040.
2. Collier ZJ, McCool K, Magee WP, Potokar T, Gillenwater J. Burn injuries in asia: a global burden of disease study. *J Burn Care Res* 2022; 43: S40–1.
3. Sun LT, Friedrich E, Heuslein JL, Pferdehirt RE, Dangelo NM, Natesan S, Christy RJ, Washburn NR. Reduction of burn progression with topical delivery of (antitumor necrosis factor- $\alpha$ )-hyaluronic acid conjugates. *Wound Repair Regen* 2012; 20: 563–72.
4. Kurahashi T, Fujii J. Roles of antioxidative enzymes in wound healing. *J Dev Biol* 2015; 3: 57–70.
5. Ortega-Llamas L, Quiñones-Vico MI, García-Valdivia M, Fernández-González A, Ubago-Rodríguez A, Sanabria-de La Torre R, Arias-Santiago S. Cytotoxicity and wound closure evaluation in skin cell lines after treatment with common antiseptics for clinical use. *Cells* 2022; 11: 1395.
6. Mimura ECM, Favoreto JPM, Favero ME, Bonifacio KL, Peixe TS, Morita AA, Barbosa DS, Yabe MJS, Carrilho AJF. Silver serum levels in burned patients treated with silver sulfadiazine and its toxicity on inflammatory cells. *Burns* 2020; 46: 1120–7.
7. Siwabessy M, Manginstar C, Merung MA, Langi FGL. Effect of propolis trigona sp on expression of tnf- $\alpha$  in superficial dermal burns through in vivo test. *E-Clin* 2024; 12: 186–94.
8. Manginstar CO, Tallei TE, Salaki CL, Niode NJ, Jaya HK. Dual anti-inflammatory and antimicrobial effects of stingless bee propolis on second-degree burns. *Narra J* 2025; 5: e2359.
9. El-Kersh DM, Abou El-Ezz RF, Ramadan E, El-kased RF. In vitro and in vivo burn healing study of standardized propolis: unveiling its antibacterial, antioxidant and anti-inflammatory actions in relation to its phytochemical profiling. *PLOS ONE* 2024; 19: e0302795.
10. Li-Mei W, Jie T, Shan-He W, Dong-Mei M, Peng-Jiu Y. Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of dexpanthenol on lipopolysaccharide induced acute lung injury in mice. *Inflammation* 2016; 39: 1757–63.
11. Zhang Y, Chen Q, Wang R, Guo L, Li P, Deng K, Xiao H, Xu X. Global trends in thermal burn burden, 1990–2021: a comprehensive analysis for the global burden of disease study 2021. *Front Public Health* 2025; 13: 1631138.
12. Huang S, Lin H-Z, Wei X. Global, regional and national burden of injuries caused by fire, heat, and hot substances from 1990 to 2021. *PLOS One* 2025; 20: e0324481.

13. Abazari M, Ghaffari A, Rashidzadeh H, Badeleh SM, Maleki Y. A systematic review on classification, identification, and healing process of burn wound healing. *Int J Low Extrem Wounds* 2022; 21: 18–30.
14. Wardhana A, Winarno GA. Epidemiology and mortality of burn injury in ciptomangunkusumo hospital, jakarta: a 5 year retrospective study. *J Plast Rekonstr* 2024; 6: 234–42.
15. Pratiwi ID, Amir FF, Herlianita R, Wahyuningsih I. An observational study of first aid knowledge and practice for burn injury in rural indonesia. *Disaster Emerg Med J* 2024; 9: 36–41.
16. Markiewicz-Gospodarek A, Koziół M, Tobiasz M, Baj J, Radzikowska-Büchner E, Przekora A. Burn wound healing: clinical complications, medical care, treatment, and dressing types: the current state of knowledge for clinical practice. *Int J Environ Res Public Health* 2022; 19: 1338.
17. Baron JM, Glatz M, Proksch E. Optimal support of wound healing: new insights. *Dermatology* 2020; 236: 593–600.
18. El-Sakhawy M, Salama A, Tohamy H-AS. Applications of propolis-based materials in wound healing. *Arch Dermatol Res* 2023; 316: 61.
19. Yang J, Pi A, Yan L, Li J, Nan S, Zhang J, Hao Y. Research progress on therapeutic effect and mechanism of propolis on wound healing. *Evid Based Complement Alternat Med* 2022; 2022: 1–15.
20. Woźniak M, Sip A, Mrówczyńska L, Broniarczyk J, Waśkiewicz A, Ratajczak I. Biological activity and chemical composition of propolis from various regions of poland. *Molecules* 2022; 28: 141.
21. Armutcu F, Akyol S, Ustunsoy S, Turan FF. Therapeutic potential of caffeic acid phenethyl ester and its anti-inflammatory and immunomodulatory effects (review). *Exp Ther Med* 2015; 9: 1582–8.
22. Gorski J, Proksch E, Baron JM, Schmid D, Zhang L. Dexpanthenol in wound healing after medical and cosmetic interventions (postprocedure wound healing). *Pharm Basel Switz* 2020; 13: 138.
23. Hashemi SS, Najari M, Parvin M, Kalani MM, Assadi M, Seyedian R, Zaeri S. Wound healing effects of dexpanthenol-loaded core/shell electrospun nanofibers: implication of oxidative stress in wound healing. *Iran J Basic Med Sci* 2024; 27.
24. Proksch E, De Bony R, Trapp S, Boudon S. Topical use of dexpanthenol: a 70th anniversary article. *J Dermatol Treat* 2017; 28: 766–73.
25. Yildizhan E, Ulger BV, Akkus M, Akinci D, Basol O. Comparison of topical sucalfate with dexpanthenol in rat wound model. *Int J Exp Pathol* 2022; 103: 164–70.

26. Goh M, Du M, Peng WR, Saw PE, Chen Z. Advancing burn wound treatment: exploring hydrogel as a transdermal drug delivery system. *Drug Deliv* 2024; 31: 2300945.
27. Abdullahi A, Amini-Nik S, Jeschke MG. Animal models in burn research. *Cell Mol Life Sci* 2014; 71: 3241–55.
28. Mulder PPG, Hooijmans CR, Vlig M, Middelkoop E, Joosten I, Koenen HJPM, Boekema BKHL. Kinetics of inflammatory mediators in the immune response to burn injury: systematic review and meta-analysis of animal studies. *J Invest Dermatol* 2024; 144: 669-696.e10.
29. Lateef Z, Stuart G, Jones N, Mercer A, Fleming S, Wise L. The cutaneous inflammatory response to thermal burn injury in a murine model. *Int J Mol Sci* 2019; 20: 538.
30. Al-Roujayee AS. Naringenin improves the healing process of thermally-induced skin damage in rats. *J Int Med Res* 2017; 45: 570–82.
31. Dekebo A, Geba C, Bisrat D, Jeong JB, Jung C. Wound healing, anti-inflammatory and anti-oxidant activities, and chemical composition of korean propolis from different sources. *Int J Mol Sci* 2024; 25: 11352.
32. Xu W, Lu H, Yuan Y, Deng Z, Zheng L, Li H. The antioxidant and anti-inflammatory effects of flavonoids from propolis via nrf2 and nf-kb pathways. *Foods* 2022; 11: 2439.
33. Yigit U, Kirzioglu FY, Ozmen Ö, Uguz AC. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester on the heart in experimental periodontitis against oxidative stress in rats. *Dent Med Probl* 2021; 58: 335–41.
34. Ruiz-Hurtado PA, Garduño-Siciliano L, Dominguez-Verano P, Martinez-Galero E, Canales-Martinez MM, Rodriguez-Monroy MA. Evaluation of the gastroprotective effects of chihuahua propolis on indomethacin- induced gastric ulcers in mouse. *Biomed Pharmacother* 2021; 137: 111345.
35. Wang H, Duan C, Keate RL, Ameer GA. Panthenol citrate biomaterials accelerate wound healing and restore tissue integrity. *Adv Healthc Mater* 2023; 12: 2301683.
36. You K, Gu H, Yuan Z, Xu X. Tumor necrosis factor alpha signaling and organogenesis. *Front Cell Dev Biol* 2021; 9: 727075.
37. Jang D-I, Lee A-H, Shin H-Y, Song H-R, Park J-H, Kang T-B, Lee S-R, Yang S-H. The role of tumor necrosis factor alpha (tnf- $\alpha$ ) in autoimmune disease and current tnf- $\alpha$  inhibitors in therapeutics. *Int J Mol Sci* 2021; 22: 2719.
38. Xu P, Liu J, Sakaki-Yumoto M, Derynck R. TACE activation by mapk-mediated regulation of cell surface dimerization and timp3 association. *Sci Signal* 2012; 5.
39. Kalliolias GD, Ivashkiv LB. TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies. *Nat Rev Rheumatol* 2016; 12: 49–62.

40. Aleksiewicz R, Lutnicki K, Likus M, Gątkiewicz Ł. Effect of  $\text{tnf-}\alpha$  concentration on selected clinical parameters of swine after burns. *J Vet Res* 2018; 62: 335–40.
41. Pei J, Pan X, Wei G, Hua Y. Research progress of glutathione peroxidase family (gpx) in redox. *Front Pharmacol* 2023; 14: 1147414.
42. Tonelli C, Chio IIC, Tuveson DA. Transcriptional regulation by  $\text{nrf2}$ . *Antioxid Redox Signal* 2018; 29: 1727–45.
43. Jena AB, Samal RR, Bhol NK, Duttaroy AK. Cellular red-ox system in health and disease: the latest update. *Biomed Pharmacother* 2023; 162: 114606.
44. Labarrere CA, Kassab GS. Glutathione: a samsonian life-sustaining small molecule that protects against oxidative stress, ageing and damaging inflammation. *Front Nutr* 2022; 9: 1007816.
45. Diaz-Del Cerro E, Martinez De Toda I, Félix J, Baca A, De La Fuente M. Components of the glutathione cycle as markers of biological age: an approach to clinical application in aging. *Antioxidants* 2023; 12: 1529.
46. Jomova K, Raptova R, Alomar SY, Alwasel SH, Nepovimova E, Kuca K, Valko M. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Arch Toxicol* 2023; 97: 2499–574.
47. Sterling JP, Lombardi VC. Decreasing the likelihood of multiple organ dysfunction syndrome in burn injury with early antioxidant treatment. *Antioxidants* 2021; 10: 1192.
48. Beiraghi-Toosi A, Askarian R, Sadrabadi Haghighi F, Safarian M, Kalantari F, Hashemy SI. Burn-induced oxidative stress and serum glutathione depletion; a cross sectional study. *Emerg Tehran Iran* 2018; 6: e54.
49. Zulhendri F, Lesmana R, Tandean S, Christoper A, Chandrasekaran K, Irsyam I, Suwantika AA, Abdulah R, Wathoni N. Recent update on the anti-inflammatory activities of propolis. *Molecules* 2022; 27: 8473.
50. Sanvictores T, Chauhan S. Vitamin b5 (pantothenic acid). *StatPearls* 2025; .
51. Oaks RJ, Cindass R. Silver sulfadiazine. *StatPearls* 2025; .
52. Shrestha S, Wang B, Dutta PK. Commercial silver-based dressings: in vitro and clinical studies in treatment of chronic and burn wounds. *Antibiotics* 2024; 13: 910.
53. Żwierello W, Piorun K, Skórka-Majewicz M, Maruszewska A, Antoniewski J, Gutowska I. Burns: classification, pathophysiology, and treatment: a review. *Int J Mol Sci* 2023; 24: 3749.
54. Warby R, Maani CV. Burn classification. *StatPearls* 2025; .
55. Jeschke MG, Van Baar ME, Choudhry MA, Chung KK, Gibran NS, Logsetty S. Burn injury. *Nat Rev Dis Primer* 2020; 6: 11.

56. Burgess M, Valdera F, Varon D, Kankuri E, Nuutila K. The immune and regenerative response to burn injury. *Cells* 2022; 11: 3073.
57. Wilkinson HN, Hardman MJ. Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. *Open Biol* 2020; 10: 200223.
58. Sastri TK, Gupta VN, Chakraborty S, Madhusudhan S, Kumar H, Chand P, Jain V, Veeranna B, Gowda DV. Novel gels: an emerging approach for delivering of therapeutic molecules and recent trends. *Gels* 2022; 8: 316.
59. Gounden V, Singh M. Hydrogels and wound healing: current and future prospects. *Gels* 2024; 10: 43.
60. Roșca O-J, Nistor A, Brandabur C, Heredea RE, Hoinoiu B, Șoica C. Rat 3d printed induction device (rapid-3d): a 3d-printed device for uniform and reproducible scald burn induction in rats with histological and microvascular validation. *Biology* 2025; 14: 378.
61. Cai EZ, Ang CH, Raju A, Tan KB, Hing ECH, Loo Y, Wong YC, Lee H, Lim J, Moomhala SM, Hauser CA, Lim TC. Creation of consistent burn wounds: a rat model. *Arch Plast Surg* 2014; 41: 317–24.
62. Patel S, Patel S, Kotadiya A, Patel S, Shrimali B, Joshi N, Patel T, Trivedi H, Patel J, Joharapurkar A, Jain M. Age-related changes in hematological and biochemical profiles of wistar rats. *Lab Anim Res* 2024; 40: 7.
63. Mihara K, Nomiyama T, Masuda K, Shindo H, Yasumi M, Sawada T, Nagasaki K, Katoh N. Dermoscopic insight into skin microcirculation – burn depth assessment. *Burns* 2015; 41: 1708–16.
64. Mamun AA, Shao C, Geng P, Wang S, Xiao J. Recent advances in molecular mechanisms of skin wound healing and its treatments. *Front Immunol* 2024; 15: 1395479.
65. Chinaronchai K. Oxygen therapy to enhance wound healing after revascularization. *Int J Low Extrem Wounds* 2024; 23: 49–54.
66. Wong RS-Y, Tan T, Pang AS-R, Srinivasan DK. The role of cytokines in wound healing: from mechanistic insights to therapeutic applications. *Explor Immunol* 2025; 5: 1003183.
67. Šuran J, Cepanec I, Mašek T, Radić B, Radić S, Tlak Gajger I, Vlaineć J. Propolis extract and its bioactive compounds—from traditional to modern extraction technologies. *Molecules* 2021; 26: 2930.
68. Deldar Y, Pilehvar-Soltanahmadi Y, Dadashpour M, Montazer Saheb S, Rahmati-Yamchi M, Zarghami N. An *in vitro* examination of the antioxidant, cytoprotective and anti-inflammatory properties of chrysin-loaded nanofibrous mats for potential wound healing applications. *Artif Cells Nanomedicine Biotechnol* 2018; 46: 706–16.

69. Aydın P, Karaköy Z, Halıcı H. Evaluation of wound healing potential of galangin on I929 mouse fibroblast cell lines using in vitro scratch assay. 2024; .
70. Mustafa OI, Lukman J, Tanko Y. Pinocembrin isolated from nigerian propolis prevents elevation of cytokines implicated in the aetiology of diabetic retinopathy in rat models of diabetes mellitus. Arch Razi Inst 2025; 80.
71. Üremiş MM, Gürel E, Aslan M, Taşlıdere E. Dexpanthenol protects against nicotine-induced kidney injury by reducing oxidative stress and apoptosis through activation of the akt/nrf2/ho-1 pathway. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 2024; 397: 1105–14.
72. Rukmana A, Supardi LA, Sjatha F, Nurfadilah M. Responses of humoral and cellular immune mediators in balb/c mice to lipx (pe11) as seed tuberculosis vaccine candidates. Genes 2022; 13: 1954.
73. Lala MDT, Sari DR. Perbandingan gambaran histologis lapisan piramidalis area ca1 hipokampus mus musculus yang dipapar radiasi gelombang elektromagnetik telepon seluler 3g dan 4g. J Penelit Perawat Prof 2023; 5: 1279–90.
74. Guo H-F, Ali RM, Hamid RA, Zaini AA, Khaza'ai H. A new model for studying deep partial-thickness burns in rats.
75. Campelo APBS, Campelo MWS, Britto GADC, Ayala AP, Guimarães SB, Vasconcelos PRLD. An optimized animal model for partial and total skin thickness burns studies. Acta Cir Bras 2011; 26: 38–42.
76. Guo H-F, Ali RM, Hamid RA, Chang SK, Zainal Z, Khaza'ai H. A new histological score grade for deep partial-thickness burn wound healing process.
77. BT Laboratory. ELISA kit instruction manual: rat tumor necrosis factor  $\alpha$ , tnf-a elisa kit. 2025; .