

**Pengaruh Kombinasi Ekstrak Propolis dan Vitamin E terhadap Kadar IL-10
dan CRP**

**Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*)
yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak**

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedis

Fauziah Rezkiyati

MBK2424010508

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

TESIS

Pengaruh Kombinasi Ekstrak Propolis dan Vitamin E terhadap Kadar IL-10 dan CRP

Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galus Wistar (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak

Disusun Oleh :

Fauziah Rezekiyati

MBK 2424010508

akan dipertahankan di depan Tim Penguji

pada tanggal Januari 2026

dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing 1



Dr.dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes

NIP: 210198046

Pembimbing 2



Dr.dr.Hadi Sarosa, M.Kes

NIP: 210101059

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedis

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



Dr.dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes

NIP: 210198046

Laporan Tesis Dengan Judul “PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK PROPOLIS DAN VITAMIN E TERHADAP KADAR CRP DAN IL-10 (Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak)” ini telah dipertahankan di depan Penguji Sidang Akhir pada:

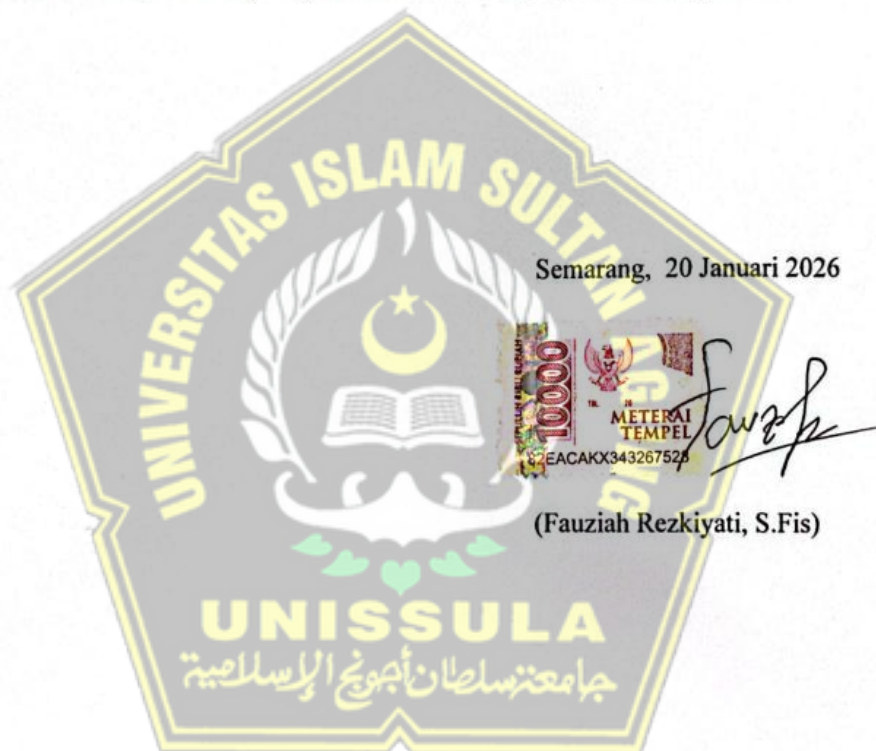
Hari : Selasa

Tanggal : 20 Januari 2026

NO	NAMA	JABATAN	TANDA TANGAN
1	Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS	Penguji I	
2	Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF, SH, MH	Penguji II	
3	Dr. dr. Minidian Fasitasari, M.Sc, Sp.GK (K)	Penguji III	
4	Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes	Pembimbing I	
5	Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes	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.



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Fauziah Rezkiyati
Tempat / tanggal lahir : Barabai, 04 September 1992
Agama : Islam
Jenis kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Kartini : Lulusan tahun 1998
2. SDN 01 Barabai Timur : Lulusan tahun 2004
3. MTS Surya Buana : Lulusan tahun 2007
4. MAN 1 Malang : Lulusan tahun 2010
5. S1 Fisioterapi Fakultas Kesehatan UMS : Lulusan tahun 2014
6. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula Semarang: (2024-sekarang)

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : Fahmi Septian
2. Nama Anak : Faradina Asyiffa Muthia
Fahreyza Musyaffa Ghifahri

KATA PENGANTAR

Puji syukur keadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahnya sehingga dapat menyelesaikan penyusunan proposal tesis dengan judul “ Pengaruh Kombinasi Ekstrak Propolis Dan Vitamin E Terhadap Kadar Interleukin-10 Dan C-Reactive Protein (Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*) Yang Mendapatkan Diet Tinggi Lemak)”

Pada penyusunan tesis ini penyusun mendapat bantuan pengarahan dan bimbingan, untuk itu penyusun ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar- besarnya pada yang terhormat :

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., 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. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF, SH selaku dekan Fakultas Kedokteran UNISSULA yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan di program Magister Ilmu Biomedik.
3. Dr. dr. Eko Setiawan Sp.B., FINACS selaku ketua Program Studi Magister Ilmu yang telah telah memberikan kesempatan dan memfasilitasi penulis untuk mengikuti pendidikan di program Magister Ilmu Biomedik.
4. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku pembimbing I yang telah memberikan dorongan, semangat, bimbingan masukan penulis selama penyusunan tesis ini.
5. Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes selaku pembimbing II yang telah memberikan dorongan, semangat bimbingan masukan penulis selama penyusunan tesis ini.
6. Dr. dr. Eko Setiawan Sp.B., FINACS selaku penguji I yang telah memberikan dorongan, semangat bimbingan masukan penulis selama penyusunan tesis ini.
7. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF, SH selaku penguji II yang telah

memberikan dorongan, semangat bimbingan masukan penulis selama penyusunan tesis ini.

8. Dr. dr. Minidian Fasitasari, MSc, Sp.GK (K) selaku penguji III yang telah memberikan dorongan, semangat bimbingan masukan penulis selama penyusunan tesis ini.
9. Seluruh dosen pengajar dan staf Magister Ilmu Biomedik yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan doa dan dorongan kepada penyusun.
10. Kedua orang tua, mertua dan adek-adek yang telah memberikan dorongan, serta doa sehingga proposal tesis ini dapat terselesaikan.
11. Suami dan anak-anak selalu memberikan semangat
12. dr.Eria dan dr.Novita yang selalu penuh dukungan
13. teman-teman kantor Poltekkes BCM yang penuh dukungan
14. Seluruh pihak yang telah membantu dalam penyusunan tesis yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Penulis berharap tesis ini dapat memberikan manfaat bagi penulis pribadi, bagi Program Studi Magister Ilmu Biomedik serta bagi pihak-pihak lain yang berkepentingan. Akhir kata semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan rahmatnya kepada kita semua, amin

Semarang, 20 Januari 2026

(Fauziah Rezkiyati, S.Fis)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN DEWAN PENGUJI	iii
PERNYATAAN	iv
RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
INTISARI	xiii
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Keaslian Penelitian	5
1.5. Manfaat Penelitian	7
1.5.1. Manfaat Teoritis	7
1.5.2. Manfaat Praktis	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1. Interleukin-10 (IL-10)	8
2.1.1. Definisi	8
2.1.2. Regulasi Produksi Interleukin-10 (IL-10)	8
2.1.3. Pengukuran IL-10	11
2.2. C- Reactive Protein	11

2.2.1.	Definisi	11
2.2.2.	Jalur pensinyalan CRP.....	12
2.2.3.	Pengukuran CRP	14
2.3.	Faktor – faktor yang mempengaruhi kadar IL-10 dan kadar CRP	15
2.4.	Diet Tinggi Lemak.....	17
2.4.1.	Definisi	17
2.4.2.	Stres Oksidatif	19
2.5.	Propolis.....	19
2.5.1.	Definisi	19
2.5.2.	Ekstrak propolis dengan metode CMCE.....	23
2.6.	Vitamin E.....	24
2.6.1.	Definisi	24
2.7.	Pengaruh Propolis dan Vitamin E terhadap kadar IL-10 dan CRP pada tikus dengan diet tinggi lemak	25
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS ..		26
3.1.	Kerangka Teori.....	26
3.2.	Kerangka Konsep	29
3.3.	Hipotesis	29
BAB IV METODE PENELITIAN		30
4.1.	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	30
4.2.	Populasi dan Teknik Pengambilan Sampel	31
4.2.1.	Populasi dan Sampel	31
4.2.2.	Besar Sampel	31
4.2.3.	Cara Pengambilan Sampel Penelitian.....	32
4.2.4.	Kriteria Inklusi	32
4.2.5.	Kriteria Eksklusi.....	32
4.3.	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	33
4.3.1.	Variabel	33
4.3.2.	Definisi Operasional.....	33
4.4.	Alat dan Bahan Penelitian	35
4.4.1.	Alat	35

4.4.2.	Bahan.....	35
4.5.	Prosedur Penelitian.....	36
4.5.1.	<i>Ethical Clearance</i>	36
4.5.2.	Aklimatisasi.....	36
4.5.3.	Penetapan Dosis Ekstrak Propolis dan Vitamin E.....	36
4.5.4.	Komposisi Diet Tinggi Lemak.....	37
4.5.5.	Pembagian Kelompok Perlakuan.....	38
4.5.6.	Penimbangan Berat Badan.....	39
4.5.7.	Prosedur Pengambilan Sampel sebagai Spesimen.....	39
4.5.8.	Preparasi Spesimen.....	39
4.5.9.	Pemeriksaan Profil Lipid.....	39
4.5.10.	Prosedur Pemeriksaan Kadar IL-10 dan CRP.....	40
4.6.	Alur Penelitian.....	42
4.7.	Analisis Hasil.....	43
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		45
5.1.	Hasil Penelitian.....	45
5.1.1.	Gambaran Umum Hewan Coba Penelitian.....	45
5.1.2.	Hasil Pemeriksaan Profil Lipid.....	48
5.1.3.	Hasil Pemeriksaan Kadar C-Reactive Protein (CRP).....	52
5.1.4.	Hasil Pemeriksaan Kadar IL-10 (Interleukin-10).....	54
5.2.	Pembahasan.....	56
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....		61
6.1.	Kesimpulan.....	61
6.2.	Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA.....		63
LAMPIRAN.....		68

DAFTAR SINGKATAN

AMPK	: <i>AMP-Activated Protein Kinase</i>
ATF1	: <i>Activating Transcription Factor 1</i>
ATP	: <i>Adenosine Triphosphate</i>
CAPE	: <i>Caffeic Acid Phenethyl Ester</i>
CRP	: <i>C-Reactive Protein</i>
CMCE	: <i>Chloroform Methanol Crude Extract</i>
ERK	: <i>Extracellular Signal-Regulated Kinase</i>
GC	: <i>Glucocorticoid</i>
GSK3 β	: <i>Glycogen Synthase Kinase 3 beta</i>
HFD	: <i>High Fat Diet / Diet Tinggi Lemak</i>
IFN- γ	: <i>Interferon gamma</i>
IL-1 β	: <i>Interleukin-1 beta</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IL-10	: <i>Interleukin-10</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MetS	: <i>Metabolic Syndrome / Sindrom Metabolik</i>
MSK	: <i>Mitogen- and Stress-activated Kinase</i>
Mtor	: <i>Mammalian Target of Rapamycin</i>
NF-K β	: <i>Nuclear Factor kappa B</i>
Nrf2	: <i>Nuclear Factor Erythroid 2-related Factor 2</i>
PI3K	: <i>Phosphoinositide 3-Kinase</i>
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SCFA	: <i>Short-Chain Fatty Acids</i>
STAT	: <i>Signal Transducer and Activator of Transcription</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor-beta</i>
TLR	: <i>Toll-Like Receptor</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor-alpha</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Komposisi Pakan Standar merk HI-PRO-VITE	37
Tabel 4.2. Alur Penelitian	42
Tabel 5.1. Rerata dan Simpangan Baku (Mean \pm SD), Uji Normalitas (Shapiro-Wilk), Uji Homogenitas Varians (Levene) Berat Badan Tikus (g) sebelum perlakuan.....	46
Tabel 5.2. Rerata dan Simpangan Baku (Mean \pm SD), Uji Normalitas (Shapiro-Wilk), Uji Homogenitas Varians (Levene), dan Uji Perbedaan Profil Lipid (mg/dL) pada Berbagai Kelompok Perlakuan.....	48
Tabel 5.3. Rerata dan Simpangan Baku (Mean \pm SD), Uji Normalitas (Shapiro-Wilk), Uji Homogenitas Varians (Levene), dan Uji Perbedaan Kadar CRP (ng/mL) pada Berbagai Kelompok Perlakuan	52
Tabel 5.4. Rerata dan Simpangan Baku (Mean \pm SD), Uji Normalitas (Shapiro-Wilk), Uji Homogenitas Varians (Levene), dan Uji Perbedaan Kadar IL-10 (mmol/mL) pada Berbagai Kelompok Perlakuan	54
Tabel 5.5. Hasil Analisis Uji Lanjut (Post Hoc) LSD yang Dilakukan untuk Mengetahui Perbedaan Kadar IL-10 Antar Kelompok (Uji Post Hoc* bermakna jika $p < 0,05$).....	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Regulasi produksi IL 10.	11
Gambar 2.2.	Jalur pensinyalan inflamasi kadar CRP.....	14
Gambar 3.1.	Kerangka Teori.....	28
Gambar 3.2.	Kerangka Konsep.....	29
Gambar 4.1.	Skema Rancangan Penelitian.....	30
Gambar 5.1.	Berat Badan Tikus (g) sebelum perlakuan.....	47
Gambar 5.2.	Hasil Analisis Uji Lanjut (Post Hoc) Mann Whitney U yang Dilakukan untuk Mengetahui Perbedaan Kadar Kolesterol Total Antar Kelompok (Uji Post Hoc* bermakna jika $p < 0,05$) ..	49
Gambar 5.3.	Diagram Batang Kadar HDL Antar Kelompok.....	50
Gambar 5.4.	Hasil Analisis Uji Lanjut (Post Hoc) LSD yang Dilakukan untuk Mengetahui Perbedaan Kadar LDL Antar Kelompok (Uji Post Hoc* bermakna jika $p < 0,05$).....	51
Gambar 5.5.	Hasil Analisis Uji Lanjut (Post Hoc) Tamhane's T2 yang Dilakukan untuk Mengetahui Perbedaan Kadar Trigliserida Antar Kelompok.....	52
Gambar 5.6.	Diagram Batang Kadar CRP Antar Kelompok.....	54
Gambar 5.7.	Hasil Analisis Uji Lanjut (Post Hoc) LSD yang Dilakukan untuk Mengetahui Perbedaan Kadar IL-10 Antar Kelompok (Uji Post Hoc* bermakna jika $p < 0,05$).....	56

INTISARI

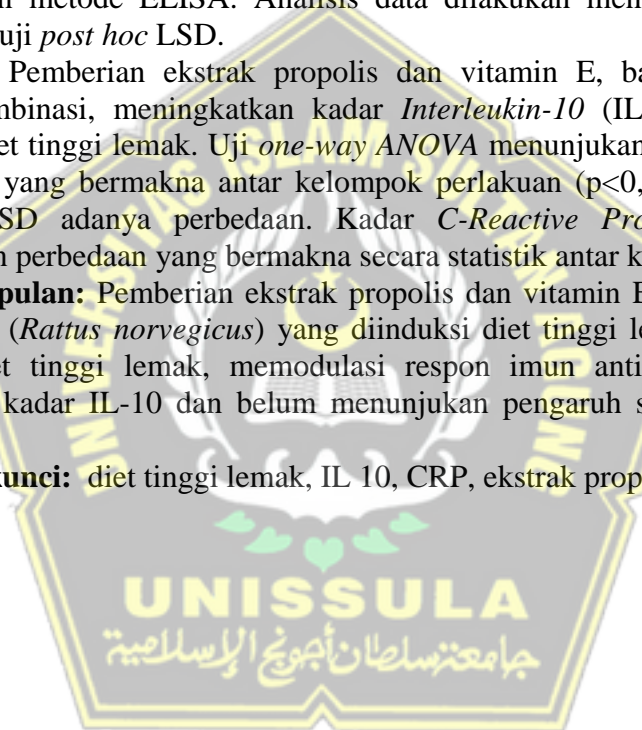
Latar belakang: Diet tinggi lemak dapat memicu stres oksidatif dan inflamasi sistemik yang ditandai dalam penurunan sitokin antiinflamasi Interleukin-10 (IL-10) dan peningkatan *C-Reactive Protein* (CRP). Propolis dan vitamin E dikenal memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang berpotensi memperbaiki respons inflamasi akibat diet tinggi lemak.

Metode: Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan rancangan *post-test only control group design*. Sebanyak 30 ekor tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) dibagi secara acak ke dalam lima kelompok: kontrol sehat, kontrol diet tinggi lemak, vitamin E, ekstrak propolis, dan kombinasi vitamin E–propolis. Perlakuan diberikan selama 14 hari. Kadar IL-10 dan CRP serum diukur menggunakan metode ELISA. Analisis data dilakukan menggunakan *one-way ANOVA* dan uji *post hoc* LSD.

Hasil: Pemberian ekstrak propolis dan vitamin E, baik secara tunggal maupun kombinasi, meningkatkan kadar *Interleukin-10* (IL-10) dibandingkan kelompok diet tinggi lemak. Uji *one-way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan kadar IL-10 yang bermakna antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$), dan uji lanjut *post hoc* LSD adanya perbedaan. Kadar *C-Reactive Protein* (CRP) tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik antar kelompok ($p > 0,05$).

Kesimpulan: Pemberian ekstrak propolis dan vitamin E pada tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi diet tinggi lemak, berpengaruh terhadap diet tinggi lemak, memodulasi respon imun anti-inflamasi melalui peningkatan kadar IL-10 dan belum menunjukkan pengaruh signifikan terhadap kadar CRP.

Kata kunci: diet tinggi lemak, IL 10, CRP, ekstrak propolis dan vitamin E



ABSTRACT

Background: A high-fat diet can trigger oxidative stress and systemic inflammation, characterized by a decrease in the anti-inflammatory cytokine Interleukin-10 (IL-10) and an increase in C-Reactive Protein (CRP). Propolis and vitamin E are known to have antioxidant and anti-inflammatory activities that have the potential to ameliorate the inflammatory response induced by a high-fat diet.

Methods: This study employed an experimental design with a *post-test only control group*. A total of 30 male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were randomly allocated into five groups: healthy control, high-fat diet control, vitamin E, propolis extract, and a combination of vitamin E and propolis. The interventions were administered for 14 days. Serum IL-10 and CRP levels were measured using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA), followed by the least significant difference (LSD) post hoc test.

Results: Administration of propolis extract and vitamin E, either alone or in combination, increased *Interleukin-10* (IL-10) levels compared to the high-fat diet group. One-way ANOVA revealed a significant difference in IL-10 levels among the treatment groups ($p < 0.05$), and post hoc LSD analysis confirmed these differences. In contrast, *C-Reactive Protein* (CRP) levels did not show a statistically significant difference among groups ($p > 0.05$).

Conclusion: Administration of propolis extract and vitamin E to male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) induced by a high-fat diet had an effect on the high-fat diet, modulating the anti-inflammatory immune response by increasing IL-10 levels, but did not show a significant effect on CRP levels.

Keywords: high-fat diet, IL-10, CRP, propolis extract, and vitamin E

UNISSULA
جامعة سلطان أبوبوع الإسلامية

BAB I

PENDAHULIAN

1.1. Latar Belakang

Inflamasi adalah respons fisiologis tubuh terhadap rangsangan berbahaya seperti infeksi, cedera jaringan, atau stres oksidatif, dan kondisi ini dapat menjadi lebih berat ketika tubuh terpapar diet tinggi lemak.¹⁻² Diet tinggi lemak memicu peningkatan stres oksidatif, akumulasi lipid, dan aktivasi jalur proinflamasi yang menyebabkan ketidakseimbangan antara mediator inflamasi dan antiinflamasi, sehingga memicu terjadinya inflamasi sistemik.³ Proses inflamasi melibatkan aktivasi berbagai sel imun serta pelepasan mediator kimia, termasuk sitokin proinflamasi yang dapat berkembang menjadi inflamasi kronis apabila tidak terkendali.⁴ Ketidakseimbangan respons imun akibat paparan jangka panjang diet tinggi lemak berkontribusi terhadap munculnya obesitas, resistensi insulin, gangguan metabolik, serta mempercepat kerusakan jaringan melalui peningkatan peradangan berkelanjutan.⁵⁻⁶

Diet tinggi lemak menjadi salah satu faktor utama pemicu inflamasi sistemik melalui peningkatan akumulasi lemak visceral, stres oksidatif, dan aktivasi sel imun yang menyebabkan pelepasan sitokin proinflamasi.⁷ Kondisi ini mendorong peningkatan kadar C-Reactive Protein (CRP), yaitu penanda inflamasi yang meningkat ketika terjadi aktivasi respon imun baik pada inflamasi akut maupun inflamasi kronis tingkat rendah, serta berhubungan erat dengan risiko penyakit metabolik, kardiovaskular, dan

gangguan degeneratif.⁸ Interleukin-10 (IL-10) sebagai sitokin antiinflamasi berperan penting dalam menghambat produksi sitokin proinflamasi dan menekan aktivasi makrofag agar respon imun tetap seimbang.⁹ Ketidakseimbangan yang ditandai oleh tingginya CRP dan menurunnya IL-10 akibat paparan diet tinggi lemak menyebabkan inflamasi berkepanjangan, peningkatan stres oksidatif, serta kerusakan jaringan yang pada akhirnya memperburuk disfungsi metabolik dan meningkatkan kerentanan terhadap berbagai penyakit kronis.^{8-10-2.}

Propolis dan vitamin E telah lama digunakan sebagai agen antiinflamasi, baik secara tunggal maupun kombinasi, dengan potensi sinergis dalam menekan respons inflamasi.¹¹ Berbagai penelitian menunjukkan bahwa propolis, yang kaya akan flavonoid, fenolik, dan asam kafeat fenetil ester (CAPE), mampu menurunkan ekspresi mediator proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, dan CRP serta meningkatkan IL-10 melalui modulasi jalur NF- κ B dan MAPK.¹²⁻¹³ Vitamin E memiliki aktivitas antioksidan melalui kemampuannya menetralkan radikal bebas dan melindungi membran sel dari peroksidasi lipid, serta diketahui dapat menghambat aktivasi NF- κ B yang menurunkan CRP, dan mendukung regulasi IL-10 pada kondisi stres oksidatif.¹⁴ Meskipun keduanya memiliki efek antiinflamasi, penggunaan secara tunggal sering kali belum memberikan hasil optimal karena propolis lebih dominan menekan mediator proinflamasi sementara vitamin E lebih berfokus pada pengendalian stres oksidatif. Peningkatan IL-10 dan penurunan CRP mungkin belum tercapai

secara maksimal. Kombinasi propolis dan vitamin E diperkirakan memberikan efek sinergis, dengan propolis menekan jalur inflamasi dan vitamin E memperkuat pertahanan antioksidan, sehingga keseimbangan antara IL-10 dan CRP dapat dicapai lebih efektif.¹⁵⁻¹⁶

Kombinasi propolis dan vitamin E mempunyai potensi sinergis yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian tunggal, karena keduanya memiliki mekanisme kerja yang saling melengkapi dalam menekan stres oksidatif dan respon inflamasi.¹⁵ Propolis mengandung flavonoid dan asam fenolik yang berperan sebagai antioksidan kuat sekaligus mampu menekan produksi sitokin proinflamasi, sementara vitamin E merupakan antioksidan lipofilik utama yang melindungi membran sel dari kerusakan akibat radikal bebas.¹⁷⁻¹⁸ Sinergi antara keduanya diharapkan dapat meningkatkan regulasi sistem imun, menurunkan biomarker inflamasi, serta memberikan efek protektif yang lebih optimal terhadap berbagai kondisi patologis terkait inflamasi kronis.¹⁵⁻¹⁹ Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi efektivitas kombinasi ekstrak propolis dan vitamin E terhadap kadar IL-10 dan CRP pada tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi diet tinggi lemak. Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan bukti ilmiah mengenai potensi sinergi kedua agen antioksidan dalam menekan inflamasi, sehingga dapat menjadi dasar bagi pengembangan terapi alternatif berbasis bahan alam untuk pencegahan maupun pengelolaan penyakit metabolik.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh kombinasi ekstrak propolis dan vitamin E terhadap kadar IL-10 dan CRP pada tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi diet tinggi lemak ?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Membuktikan pengaruh kombinasi ekstrak propolis dan vitamin E terhadap kadar IL-10 dan CRP pada tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi diet tinggi lemak.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Membuktikan pengaruh ekstrak propolis dosis 36 mg/KgBB/ hari, terhadap kadar interleukin 10 (IL-10) dan C-Reactive Protein (CRP) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan yang diinduksi diet tinggi lemak.

1.3.2.2. Membuktikan pengaruh vitamin E dengan dosis 12 mg/KgBB/ hari, terhadap kadar interleukin 10 (IL-10) dan C-Reactive Protein (CRP) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan yang diinduksi diet tinggi lemak.

1.3.2.3. Membuktikan pengaruh kombinasi ekstrak propolis dengan dosis 18 mg/ KgBB/ hari dan vitamin E dengan dosis 6 mg/KgBB/ hari terhadap kadar interleukin 10 (IL-10) dan C-Reactive Protein (CRP) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan yang diinduksi diet tinggi lemak

1.4. Keaslian Penelitian

Tabel 1.1. Tabel keaslian penelitian

No	Judul	Tahun	Desain	Hasil
1	<i>Synergistic Potential of Propolis and Vitamin E Against Sub-Acute Toxicity of AlCl3 in Albino Mice: In Vivo Study</i>	2019	Eksperimental in vivo	Propolis dan vitamin E mampu memperbaiki efek toksik, efek perlindungan terbaik terjadi saat keduanya diberikan bersamaan, dosis antara 200-400mg/kg
2	<i>Effect Of Vitamin E Or Propolis Supplementation On Semen Quality, Oxidative Status And Hemato- Biochemical Changes Of Rabbit Buck During The Hot Season</i>	2018	Eksperimen in vivo	Suplementasi vitamin E dan propolis efektif mengurangi dampak negativ stress panas pada fungsi hematologis dan biokimia, dengan propolis menunjukkan aktivitas antioksidan lebih kuat, dapat meningkatkan TAC dan
3	<i>Effect of vitamin e or propolis addition on alleviation of heat stress impact on growing rabbits</i>	2023	Eksperimen in vivo	Pemberian suplemen Propolis atau Vitamin E secara signifikan mengurangi dampak stres panas pada kelinci yang sedang tumbuh, propolis 150 mg/kg terbukti paling efektif.
4	<i>Propolis and its constituents against cardiovascular risk factors including obesity, hypertension, atherosclerosis, diabetes, and dyslipidemia</i>	2023	Eksperimen in vivo	Dosis propolis bervariasi 20–600 mg/kg/hari. Memberikan efek anti-obesitas, anti-hipertensi, anti-aterosklerosis, anti-dislipidemia, dan anti-diabetes melalui mekanisme antioksidan, antiinflamasi, peningkatan NO, dan regulasi gen metabolisme lipid/glukosa.

5	<i>Polyphenolics profile effects upon the antioxidant and antimicrobial activity of propolis extracts</i>	2021	Eksperimen in vivo	Hasil penelitian menunjukkan bahwa intervensi memiliki efek anti-obesitas dan memperbaiki disfungsi metabolik pada model hewan yang digunakan dengan dosis 200mg/kg BB perhari, diberikan selama 8 minggu
6	<i>The antiviral and immunomodulatory activities of propolis: An update and future perspectives for respiratory diseases</i>	2022	Eksperimen in vivo	Penelitian ini menunjukkan bahwa propolis memiliki potensi sebagai agen imunomodulator dan antiinflamasi, pada uji klinis, pemberian propolis dalam dosis 500–1.500 mg/hari selama 8–12 minggu efektif menurunkan biomarker inflamasi sistemik seperti CRP, IL-6, dan TNF- α .

Beberapa studi sebelumnya telah mengkaji efek dari propolis maupun vitamin E. Namun, penelitian ini membandingkan secara langsung efektivitas kombinasi ekstrak propolis dan vitamin E terhadap kadar interleukin 10 (IL-10) dan C-Reactive Protein (CRP) dalam rancangan kelompok eksperimental pada hewan coba. Penelitian ini masih belum pernah dipublikasikan sehingga perlu dilakukan, untuk mengetahui efek kombinasi ekstrak propolis terhadap status inflamasi (IL-10 dan CRP) pada diet tinggi lemak.

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Manfaat Teoritis

1. Memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan pengetahuan mengenai pengaruh propolis dan vitamin E sebagai anti-inflamasi dalam menangkal stres oksidatif akibat diet tinggi lemak.
2. Memperkaya literatur dan menjadi dasar bagi penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme kerja propolis dan Vitamin E dalam mempengaruhi jalur peroksidasi lipid dan sistem pertahanan anti-inflamasi

1.5.2. Manfaat Praktis

1. Memberikan informasi yang dapat digunakan sebagai dasar pertimbangan dalam pengembangan produk nutrasetikal atau suplemen kesehatan yang mengandung propolis dan Vitamin E untuk pencegahan kondisi yang terkait dengan diet tinggi lemak dan status inflamasi.
2. Menyediakan data pendukung bagi tenaga kesehatan dan masyarakat umum mengenai potensi penggunaan propolis dan vitamin E sebagai agen pelindung terhadap proses inflamasi yang diakibatkan oleh pola makan tidak sehat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Interleukin-10 (IL-10)

2.1.1. Definisi

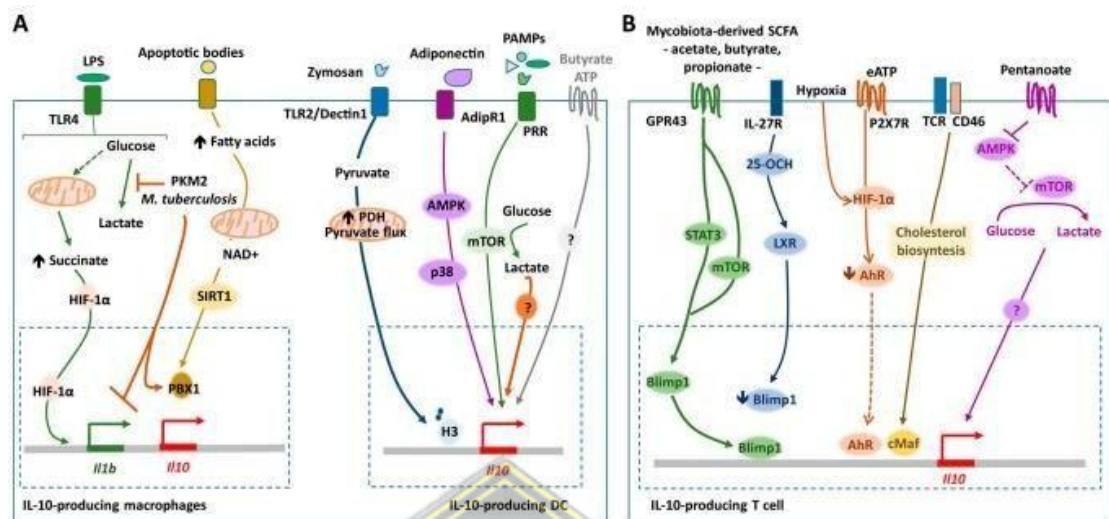
Interleukin 10 (IL-10) adalah jenis sitokin yang bersifat sebagai antiinflamasi yang memiliki peran penting dalam mengendalikan respon imun tubuh, sehingga mampu mencegah kerusakan jaringan.²⁰ Sel imun yang dapat memproduksi IL-10 adalah monosit, makrofag dan sel dendritik. Kondisi peradangan yang disebabkan oleh infeksi atau respon terhadap sel kanker terdapat sel lain (non-imun) yang mampu memproduksi IL-10 dalam kondisi tertentu seperti sel epitel dan sel keratinosit.¹⁰ Pada kondisi inflamasi kronis seperti *rheumatoid arthritis*, *psoriasis*, *systemic lupus erythematosus*, terjadi penurunan fungsi dan kadar IL-10, yang berperan menghambat sekresi IFN- γ oleh sel Th1 serta menekan produksi sitokin proinflamasi dari makrofag dan sel dendritik teraktivasi.⁴⁻⁹

2.1.2. Regulasi Produksi Interleukin-10 (IL-10)

Produksi IL-10 dikendalikan oleh kombinasi jalur pensinyalan sel, aktivasi faktor transkripsi, dan regulasi epigenetik.²¹ Jalur utama yang terlibat adalah Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK), khususnya ERK1/2 dan p38, kedua jalur ini diaktifkan ketika makrofag dan sel dendritik distimulasi oleh Toll Like Receptor

(TLR), sehingga berperan penting dalam mengatur ekspresi IL-10. Aktivasi ERK1/2 dan p38 memicu faktor transkripsi seperti CREB, ATF1, cFos, dan Sp1, yang kemudian bekerja sama untuk meningkatkan produksi IL-10.¹⁰ Kerja antara ERK dan p38 dapat mengaktifkan protein kinase lain, yaitu MSK1 dan MSK2, yang juga mendorong produksi IL-10 melalui jalur transkripsi CREB dan ATF1.²⁰⁻²² Jalur pensinyalan lain yang berperan adalah PI3K/Akt, jalur ini meningkatkan ekspresi IL-10 dengan cara menghambat GSK3 β , yaitu enzim yang biasanya menekan produksi IL-10.²³ Selain dipengaruhi oleh sinyal dari TLR, produksi IL-10 juga diatur oleh sitokin lain. Interferon tipe I, misalnya, terbukti memperkuat produksi IL-10 yang dipicu oleh adanya Lipopolisakarida (LPS) dari bakteri, termasuk *Mycobacterium tuberculosis*.³ Mekanismenya adalah dengan mengaktifkan STAT1 dan ERK, sehingga tidak hanya meningkatkan transkripsi gen IL-10 tetapi juga menstabilkan mRNA yang dihasilkan. Tidak hanya makrofag dan sel dendritik, IL-10 juga diproduksi oleh semua subset sel T. Pada sel T helper CD4, produksi IL-10 biasanya muncul bersamaan dengan sitokin khas seperti IFN- γ . Hal ini menunjukkan bahwa IL-10 merupakan bagian dari mekanisme pengendali inflamasi yang luas, berfungsi menyeimbangkan respon imun agar tidak berlebihan dan merusak jaringan.¹⁰⁻²¹

Makrofag memproduksi *interleukin-10* (IL-10) melalui aktivasi TLR4 oleh LPS yang meningkatkan glikolisis dan menghasilkan ATP serta adenosin. Aktivasi HIF-1 α dan SIRT1 mengatur transkripsi gen IL-10 melalui pengaruh metabolit suksinat dan aktivitas enzim PKM2, aktivasi AMPK menekan jalur mTOR ketika glikolisis dihambat sehingga produksi IL-10 berkurang, IL-10 berfungsi sebagai regulator metabolisme dengan cara menekan glikolisis dan meningkatkan oksidatif fosforilasi melalui DDIT4, Sel T menghasilkan IL-10 melalui stimulasi *short-chain fatty acids* (SCFA) dari mikrobiota usus yang mengaktifasi GPR43, STAT3, mTOR, dan Blimp-1, *Dendritic cell* meningkatkan produksi IL-10 melalui aktivasi AMPK, p38 MAPK, dan modifikasi histon H3. Dengan demikian, IL-10 sebagai penghubung antara metabolisme energi sel dengan regulasi sistem imun. Gambar A dan Gambar B terletak pada jenis sel imun yang diatur dan sumber sinyal yang memengaruhi produksi IL-10, Gambar A pada sel imun yaitu *makrofag* dan *dendritic cell (DC)*, di mana regulasi IL-10 lebih banyak dipengaruhi oleh metabolisme seluler (glukosa, laktat, piruvat, succinate), Gambar B menunjukkan regulasi IL-10 pada sel imun adaptif, terutama *T cell*, yang lebih dipengaruhi oleh metabolit mikrobiota (SCFA seperti asetat, butirrat, propionat) pada Gambar 2.1.²¹



Gambar 2.1. Regulasi produksi IL 10.

2.1.3. Pengukuran IL-10

Pengukuran IL-10 secara umum dilakukan dengan teknik immunoassay seperti ELISA yang memberikan kuantifikasi kuantitatif konsentrasi sitokin dalam serum atau plasma. Secara biologis, propolis sebagai suplemen natural telah dipelajari karena potensi antiinflamasi, termasuk dalam meta-analisis yang menilai berbagai biomarker, di mana propolis menunjukkan potensi untuk memodulasi respon inflamasi melalui pengaruhnya terhadap parameter inflamasi dan status antioksidan.²⁴

2.2. C- Reactive Protein

2.2.1. Definisi

C-Reactive Protein (CRP) juga merupakan penanda inflamasi dan salah satu protein fase akut yang disintesis di hati untuk memantau secara non-spesifik penyakit lokal maupun sistemik.⁸

Kadar CRP meningkat setelah adanya trauma, infeksi bakteri, dan inflamasi. CRP juga dijadikan sebagai penanda prognostik untuk inflamasi.⁸ CRP adalah alfa globulin yang dibuat di hati serta tingkatnya meninggi selama peradangan dan rusaknya jaringan. CRP merupakan penanda peradangan sensitif yang meningkat hingga 1000 kali lipat setelah peradangan dan menurun dengan cepat ketika peradangan mereda.²⁵ CRP merupakan protein *pextraxin* yang berperan sebagai molekul perlindungan lini pertama.⁸ Produksi CRP oleh sel hepatosit distimulasi oleh sitokin proinflamasi non-spesifik berupa IL-6, IL- β , dan *Tumor Necrotic Factor* (TNF).²⁵ CRP mempunyai peran melindungi tubuh manusia dengan responsi inflamasi alami yang adalah garis pelindungan pertama ditubuh. CRP beriringan dengan sistem kekebalan bawaan guna melawannya pathogen serta mikroba. CRP berkaitan dengan antigen melalui mekanisme dengan terlibatnya kalsium, dengan peran dalam meningkatkan proses fagositosis. Tingkat CRP serum mencapai tingkat patalogis Ketika tinggi CRP bisa sebagai memantau peradangan yang ditimbulkan infeksi atau non-infeksi dan guna mengevaluasi pengobatan.²⁶

2.2.2. Jalur pensinyalan CRP

Jalur pensinyalan CRP adalah proses protein yang diproduksi oleh hati sebagai respon terhadap peradangan. CRP dapat mengaktifkan jalur pensinyalan seperti jalur NF κ B dan pensinyalan

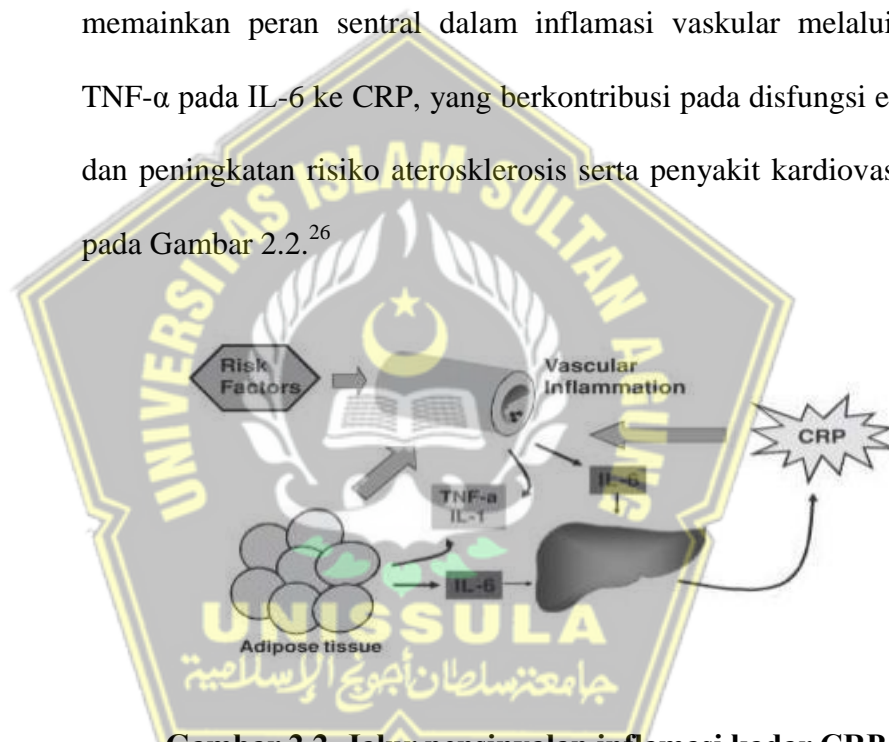
kalsium, yang dapat mempengaruhi berbagai proses seluler dan fisiologis termasuk peradangan dan respon imun.⁸

Aktivitas jalur pensinyalan CRP dapat mengaktifkan berbagai jalur pensinyalan dalam sel seperti:

1. Jalur NFκB Jalur ini penting dalam regulasi respon inflamasi dan kekebalan tubuh. Aktivitas jalur NFκB oleh CRP dapat memicu produksi sitokin pro-inflamasi dan molekul adhesi yang berkontribusi pada peradangan.²⁶
2. Jalur Pensinyalan Kalsium CRP dapat memicu peningkatan kadar kalsium dengan peningkatan kalsium akibat CRP dapat mempengaruhi fungsi sel endotel dan berkontribusi pada vasodilatasi (pelebaran pembuluh darah).²⁶

Pada obesitas, jaringan adiposa berperan sebagai organ endokrin inflamasi yang menghasilkan sejumlah besar sitokin proinflamasi seperti TNF-α dan IL-6, yang selanjutnya merangsang hati untuk meningkatkan sintesis CRP.² TNF-α, yang terutama disekresikan oleh makrofag yang bermigrasi ke jaringan adiposa, mengaktifkan jalur sinyal seperti MAPK dan NF-κB untuk mendorong pelepasan IL-6 dan IL-1β, serta menurunkan adiponektin yang memiliki efek antiinflamasi.²³ Sekitar sepertiga dari IL-6 sirkulan pada individu sehat bersumber dari jaringan adiposa, dan konsentrasinya diketahui meningkat seiring dengan indeks massa tubuh (IMT), lingkar pinggang, dan kadar asam lemak bebas yang

turut mendukung respons inflamasi sistemik, IL-6 ini kemudian memicu hepatosit untuk memproduksi CRP sebagai bagian dari respons fase akut inflamasi, sehingga kadar CRP dalam darah meningkat pada obesitas dan korelasinya dengan risiko penyakit kardimetabolik semakin kuat.²⁶ Dengan demikian, jaringan adiposa dalam kondisi obesitas tidak hanya menyimpan energi, tetapi juga memainkan peran sentral dalam inflamasi vaskular melalui jalur TNF- α pada IL-6 ke CRP, yang berkontribusi pada disfungsi endotel dan peningkatan risiko aterosklerosis serta penyakit kardiovaskular, pada Gambar 2.2.²⁶



Gambar 2.2. Jalur pensinyalan inflamasi kadar CRP

2.2.3. Pengukuran CRP

Pengukuran CRP menggunakan metode immunoturbidimetri atau ELISA, tergantung pada tujuan analisis. Pada metode immunoturbidimetri, CRP dalam sampel serum atau plasma bereaksi dengan antibodi spesifik membentuk kompleks imun yang menyebabkan peningkatan kekeruhan larutan, yang selanjutnya diukur secara fotometrik menggunakan analyzer otomatis.¹³

2.3. Faktor – faktor yang mempengaruhi kadar IL-10 dan kadar CRP

1. Usia merupakan faktor penting yang memengaruhi respons inflamasi sistemik. Seiring bertambahnya usia terjadi fenomena *inflammaging*, yaitu peningkatan inflamasi kronik tingkat rendah. Kondisi ini ditandai dengan peningkatan kadar CRP akibat aktivasi sistem imun bawaan, produksi sitokin anti-inflamasi seperti IL-10 cenderung menurun atau mengalami disfungsi regulasi pada usia lanjut. Penurunan kapasitas sel imun dalam menghasilkan IL-10 menyebabkan kontrol inflamasi menjadi kurang efektif, sehingga keseimbangan pro-inflamasi dan anti-inflamasi terganggu.⁹⁻²⁷
2. Faktor genetik berperan dalam regulasi ekspresi sitokin dan protein fase akut, dapat memengaruhi dalam memproduksi IL-10, sehingga lebih rentan mengalami inflamasi kronik, genetik yang memengaruhi jalur IL-6 dan TNF- α juga dapat meningkatkan produksi CRP oleh hepatosit, sehingga kadar CRP menjadi lebih tinggi.²⁸⁻²⁹
3. Aktivitas fisik memiliki efek modulasi terhadap sistem imun dan inflamasi. Aktivitas fisik teratur dengan intensitas sedang terbukti dapat menurunkan kadar CRP melalui penurunan adipositas dan penekanan sitokin pro-inflamasi, kontraksi otot saat olahraga merangsang pelepasan *myokines* yang bersifat anti-inflamasi dan meningkatkan produksi IL-10, aktivitas fisik yang rendah berkaitan dengan peningkatan CRP dan penurunan IL-10 akibat akumulasi lemak visceral dan aktivasi makrofag pro-inflamasi.²⁵⁻³⁰

4. Gaya hidup mencakup pola makan, kebiasaan merokok, konsumsi alkohol, kualitas tidur, dan tingkat stres. Diet tinggi lemak jenuh dan gula dapat meningkatkan stres oksidatif dan aktivasi inflamasi, yang berdampak pada peningkatan CRP, pola makan kaya antioksidan dan asam lemak tak jenuh dapat meningkatkan respons anti-inflamasi termasuk peningkatan IL-10. Kebiasaan merokok dan kurang tidur juga diketahui meningkatkan CRP dan menekan regulasi IL-10.³¹
5. Jenis kelamin memengaruhi respons inflamasi melalui peran hormon. Estrogen pada perempuan memiliki efek anti-inflamasi dengan meningkatkan ekspresi IL-10 dan menekan produksi sitokin pro-inflamasi, sehingga kadar CRP cenderung lebih rendah pada perempuan usia reproduktif, testosteron pada laki-laki memiliki efek imunomodulator yang berbeda dan pada beberapa kondisi dikaitkan dengan kadar CRP yang lebih tinggi. Setelah menopause, penurunan estrogen dapat menyebabkan peningkatan CRP dan penurunan kontrol inflamasi.³²
6. Faktor lingkungan seperti paparan polusi udara, toksin, infeksi kronik, turut memengaruhi kadar IL-10 dan CRP, dapat mengaktivasi respons inflamasi sistemik melalui stres oksidatif, yang meningkatkan kadar CRP. lingkungan yang mendukung gaya hidup sehat berperan dalam menjaga keseimbangan sitokin.³¹

2.4. Diet Tinggi Lemak

2.4.1. Definisi

Diet tinggi lemak (*High-Fat Diet / HFD*) adalah pola makan dengan proporsi lemak yang tinggi dengan kandungan lemak melebihi 40% dari total kebutuhan energi harian, khususnya lemak jenuh.⁴ Konsumsi HFD dalam jangka panjang dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara asupan energi dan pengeluarannya, dapat memicu obesitas dan berbagai gangguan metabolik.⁴ Diet tinggi lemak dikaitkan dengan peningkatan risiko obesitas, dislipidemia, penyakit kardiovaskular, diabetes melitus tipe 2, NAFLD, NASH, dan beberapa jenis kanker.⁶

Diet tinggi lemak dapat memicu peningkatan ROS dan stres oksidatif, yang dapat berdampak negatif pada berbagai organ tubuh. Peningkatan ROS juga dapat mengganggu fungsi sel, memicu peradangan, dan berkontribusi pada perkembangan berbagai penyakit kronis. Diet tinggi lemak dapat memicu peningkatan produksi ROS, terutama di dalam mitokondria, yang merupakan organel sel penghasil energi. ROS adalah molekul reaktif yang dapat merusak sel dan jaringan jika tidak dikendalikan oleh antioksidan. Peningkatan ROS akibat diet tinggi lemak dapat mengganggu sistem pertahanan antioksidan alami tubuh, yang menyebabkan ketidakseimbangan antara produksi ROS dan kemampuan tubuh yang memicu stres oksidatif.⁵⁻⁶

Konsumsi lemak berlebih tidak hanya berdampak pada peningkatan akumulasi energi, tetapi juga berpengaruh terhadap keseimbangan mikrobiota usus. Perubahan komposisi mikrobiota akibat diet tinggi lemak dapat meningkatkan produksi lipopolisakarida (LPS) dari bakteri gram negatif, yang berperan sebagai ligan alami bagi TLR4.⁷ Aktivasi TLR4 oleh LPS ini memicu serangkaian respon imun melalui jalur pensinyalan intraseluler yang berujung pada aktivasi NFκB. Aktivasi NFκB selanjutnya akan meningkatkan ekspresi berbagai sitokin proinflamasi, sehingga menciptakan kondisi inflamasi kronis tingkat rendah yang menjadi dasar perkembangan berbagai penyakit metabolik, termasuk obesitas dan resistensi insulin.⁶⁻⁷

Pengaruh diet tinggi lemak pada organ seperti (hati, ginjal, sistem kardiovaskular, otak, dan sistem reproduksi).⁴

1. Hati, diet tinggi lemak dapat menyebabkan perlemakan hati (fatty liver), peradangan dan fibrosis hati.³³
2. Ginjal, diet tinggi lemak dapat memicu kerusakan ginjal melalui peningkatan stres oksidatif dan disfungsi mitokondria.¹
3. Sistem Kardiovaskular, peningkatan ROS dan stres oksidatif akibat diet tinggi lemak dapat menyebabkan disfungsi endotel (lapisan pembuluh darah), aterosklerosis (penyempitan pembuluh darah dan penyakit jantung).³⁴

4. Otak, diet tinggi lemak dapat memengaruhi fungsi otak, peningkatan ROS dan peradangan pada otak dapat berkontribusi pada perkembangan penyakit neurodegeneratif seperti Alzheimer dan Parkinson.³³
5. Sistem Reproduksi, diet tinggi lemak dapat berdampak negatif pada kesuburan terutama pada wanita, yang melalui peningkatan ROS dan peradangan di ovarium.³⁵

2.4.2. Stres Oksidatif

Stres oksidatif adalah kondisi ketidakseimbangan antara produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS), dengan kapasitas pertahanan antioksidan tubuh. Pada konsumsi HFD, stres oksidatif menjadi salah satu faktor kunci yang menghubungkan pola makan dengan perkembangan Mets. ROS yang berlebih dapat merusak protein, lipid, DNA, dan memicu inflamasi kronis tingkat rendah (*low-grade inflammation*).⁴⁻³⁶

2.5. Propolis

2.5.1. Definisi

Propolis adalah zat resin yang dikumpulkan oleh lebah untuk memberikan perlindungan fisik dan biokimia pada sarangnya. Aktivitas biologis propolis meliputi antibakteri, antivirus, antijamur, antiparasit, antioksidan, dan antiinflamasi.³⁷ Propolis telah digunakan untuk mengobati penyakit selama berabad-abad karena sifat terapeutiknya yang luas bagi manusia. Catatan sejarah

menunjukkan bahwa orang Mesir kuno, Yunani, Persia, Romawi, India, Maya, dan Aborigin Australia secara mandiri mengembangkan penggunaan propolis untuk terapi. Penelitian ilmiah yang lebih baru menunjukkan bahwa sifat terapeutik propolis adalah karena kandungan metabolit sekunder tumbuhan seperti fenolat dan terpenoid.³⁸

Propolis merupakan produk alami dari lebah yang mengandung senyawa flavonoid dan memiliki fungsi sebagai antioksidan ataupun antimikroba dan juga antifungal yang dihasilkan lebah pekerja dari tumbuh-tumbuhan dimana komponen resin serta lilin mendominasi komponen pada propolis tersebut sebesar 50% pada resin dan 30% pada komponen lilin dan asam lemak.³⁹ Sisa dari komponen propolis tersebut diantaranya adalah minyak esensial, pollen dan senyawa organik mineral, enzim serta senyawa fenolik dan flavonoid. Senyawa ini bekerja dengan cara menetralkan radikal bebas dan menekan produksi sitokin proinflamasi (IL-6, IL-1 β , TNF- α), serta meningkatkan produksi IL-10. Propolis juga menaktivasi jalur Nrf2, yang dapat memicu ekspresi enzim antioksidan dan memberikan perlindungan terhadap stress oksidatif akibat diet tinggi lemak.³⁷⁻⁴⁰

Propolis mengandung lebih dari 300 senyawa kimia, kandungan terbanyak adalah senyawa polifenol. Salah satu senyawa polifenol ialah flavonoid yang bertugas sebagai antioksidan untuk

mengatasi kerusakan dan penyakit di dalam tubuh. Pada dasarnya komposisi kimiawi dari propolis tidak selalu sama di seluruh dunia, bisa bervariasi tergantung lokasi geografi, asal tanaman, musim dan spesies lebah. Alasan inilah yang membuat para ahli cukup kesulitan dalam menyimpulkan manfaat propolis bagi kesehatan. Propolis mengandung beberapa komponen kimia seperti resin (45 - 55 %) dengan komponen flavonoid, asam fenolat dan esternya, terpenoid, steroid dan asam lemak (25 - 35 %), minyak esensial (10 %), Polen (5 %), mineral, vitamin, dan zat organik lain (5 %).²⁶ Kandungan flavonoid didalamnya dapat meredam efek buruk radikal bebas.⁴¹ Flavonoid merupakan salah satu senyawa dari golongan polifenolik, yang biasa digunakan untuk menentukan kualitas dari propolis. Senyawa-senyawa fenolik dan flavonoid merupakan antioksidan yang baik, dan terbukti lebih baik daripada vitamin C, E dan karotenoid antioksidan, immunomodulasi, hipoglikemi, efek hipolipidemi dan melenturkan pembuluh darah. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya, berada dalam bentuk glukosida atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon. Selain itu flavonoid juga bermanfaat untuk melindungi struktur sel, memiliki hubungan sinergis dengan vitamin C (meningkatkan efektifitas vitamin C), anti inflamasi, mencegah keropos tulang, mencegah kanker dan sebagai antibiotik.⁴¹⁻⁴²

Radikal bebas akan menyerang biomakromolekul penting dalam tubuh seperti komponen penyusun sel sehingga terbentuk peroksida dan menimbulkan penyakit degeneratif. Senyawa oksigen reaktif ini juga mampu merusak bagian dalam pembuluh darah sehingga meningkatkan pengendapan kolesterol dan menimbulkan arterosklerosis, merusak DNA sehingga mengacaukan sistem info genetika, dan berlanjut pada pembentukan sel kanker. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat melindungi sel- sel dalam tubuh dari kerusakan yang disebabkan oleh reaksi oksidasi berantai senyawa radikal bebas. Senyawa antioksidan mampu menunda, menghambat atau mencegah proses oksidasi molekul lain. Oksidasi adalah reaksi kimia yang dapat menghasilkan radikal bebas, sehingga memicu reaksi berantai yang dapat merusak sel. Poplar propolis memiliki sekitar 50 konstituen, terutama resin dan balsam nabati (50%), lilin (30%), minyak esensial (10%), dan serbuk sari (5%). Senyawa utama yang aktif secara biologis ditemukan di balamik isi dan termasuk senyawa polifenol (asam kafeat *phenethyl ester* (CAPE)), flavonoid (*chrysin, catechin, galangin*), turunan stilben (*resveratrol*), dan asam lemak. Senyawa- senyawa ini, khususnya CAPE dan flavonoid, telah terbukti memiliki aktivitas anti-inflamasi dan imunomodulasi yang kuat in vitro. CAPE secara signifikan menghambat produksi sitokin dan limfokin, termasuk TNF- α , IL-2, IL-10, IL-12, dan IFN, dan menghambat proliferasi sel-T.³⁸⁻⁴⁰⁻⁴³

2.5.2. Ekstrak propolis dengan metode CMCE

Propolis yang digunakan dalam penelitian ini merupakan propolis dari PT HDI dengan merk dagang propoelixTM. Propolis ini merupakan propolis tipe poplar yang diekstrak dengan metode CMCE. Metode ekstraksi dengan menggunakan CMCE ini merupakan metode ekstraksi modern, dengan menghilangkan semua zat lilin dan resin dalam propolis, sehingga menghasilkan ekstrak dengan zat bioaktif saja. Bahan aktif yang dihasilkan seperti flavonoid, flavones, polifenol, dan ester asam fenolat. Teknik ini memungkinkan menggunakan zat yang berguna saja dan membuang zat-zat yang dirasa tidak diperlukan. Dengan teknik ini, ekstrak zat aktif 15% lebih banyak dibandingkan dengan teknik lain.⁴⁴

HDI PropoelixTM memiliki kadar ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), ORAC adalah nilai antioksidan dari suatu produk makanan atau suplemen yang dapat mengurangi reaksi oksidasi di dalam tubuh. Ekstrak propolis (metode CMCE) memanfaatkan proses CMCE yang telah dipatenkan, Proses ini memurnikan dan menghilangkan 99.95% kotoran (seperti logam berat dan pestisida) tanpa adanya perubahan kimia, mempertahankan jumlah awal mikro-nutrisi dari propolis mentah yang biasanya diencerkan dengan destilasi uap tradisional atau proses ekstraksi padat-cair. Teknologi CMCE mampu membuang semua zat yang tidak dibutuhkan tubuh dan mempertahankan secara optimal zat

yang berguna pada propolis yaitu bioflavonoid, polifenol, asam fenolat ester, dan flavon. Semua zat yang di hasilkan itu larut dalam air. Selain itu CMCE juga ramah lingkungan karena tidak membutuhkan konsumsi energi yang tinggi.¹³⁻⁴⁵

2.6. Vitamin E

2.6.1. Definisi

Vitamin E adalah istilah umum yang digunakan untuk sejumlah besar senyawa alami atau sintetis. α -Tokoferol merupakan zat yang paling aktif dan tersebar luas di alam, serta merupakan bentuk antioksidan paling aktif dari vitamin E, α Tokoferol juga berperan penting sebagai antioksidan lipofilik utama dalam plasma, membran, dan jaringan. Fungsi terpenting dari vitamin E adalah sebagai antioksidan yang dapat menangkal serangan radikal bebas yang dapat merusak sel dan menyebabkan berbagai penyakit degeneratif. Antioksidan juga membantu mengurangi efek photoaging pada kulit, mempotensiasi aktivitas anti-penuaan dan anti-inflamasi, meningkatkan laju penutupan luka, dan membantu menjaga kesehatan mata dan sistem kekebalan tubuh.⁴⁶⁻⁴⁷

Vitamin E memiliki fungsi antioksidan Sifat antioksidan dari vitamin E efektif dalam mencegah berbagai penyakit seperti aterosklerosis, cancer, katarak, anti inflamasi, dan peningkat imunitas, juga dapat meningkatkan kadar IL-10 dan menurunkan CRP, sebagai antioksidan bitamin E dapat membantu untuk

melindungi sel dari kerusakan akibat radikal bebas yang terkait dengan peradangan.¹⁶ Vitamin E adalah antioksidan lipofilik yang terdiri dari tokoferol dan tocotrienol dengan α -tokoferol sebagai bentuk paling aktif, sumber nya seperti minyak nabati, kacang-kacangan dan sayuran hijau, yang fungsi utamanya adalah menetralkan radikal bebas, menghambat stress oksidatif dan modulasi respons inflamasi.⁴⁸⁻⁴⁹

2.7. Pengaruh Propolis dan Vitamin E terhadap kadar IL-10 dan CRP pada tikus dengan diet tinggi lemak

Diet tinggi lemak yang akan memicu peradangan sistemik melalui beberapa mekanisme, terjadi peningkatan produksi sitokin pro-inflamasi seperti IL-6 dan TNF- α oleh jaringan adiposa, aktivasi jalur NF-kB yang menekan sitokin anti-inflamasi IL-10, dan peningkatan kadar CRP sebagai penanda peradangan kronis.⁴⁹⁻⁵⁰

Propolis bekerja pada jalur imunomodulasi dan antiinflamasi, sedangkan vitamin E memperkuat perlindungan terhadap kerusakan sel yang melalui aktivitas antioksidan. Kombinasi ini memberikan perlindungan terhadap stress oksidatif dan inflamasi sistemik yang diinduksi diet tinggi lemak.⁴⁹

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

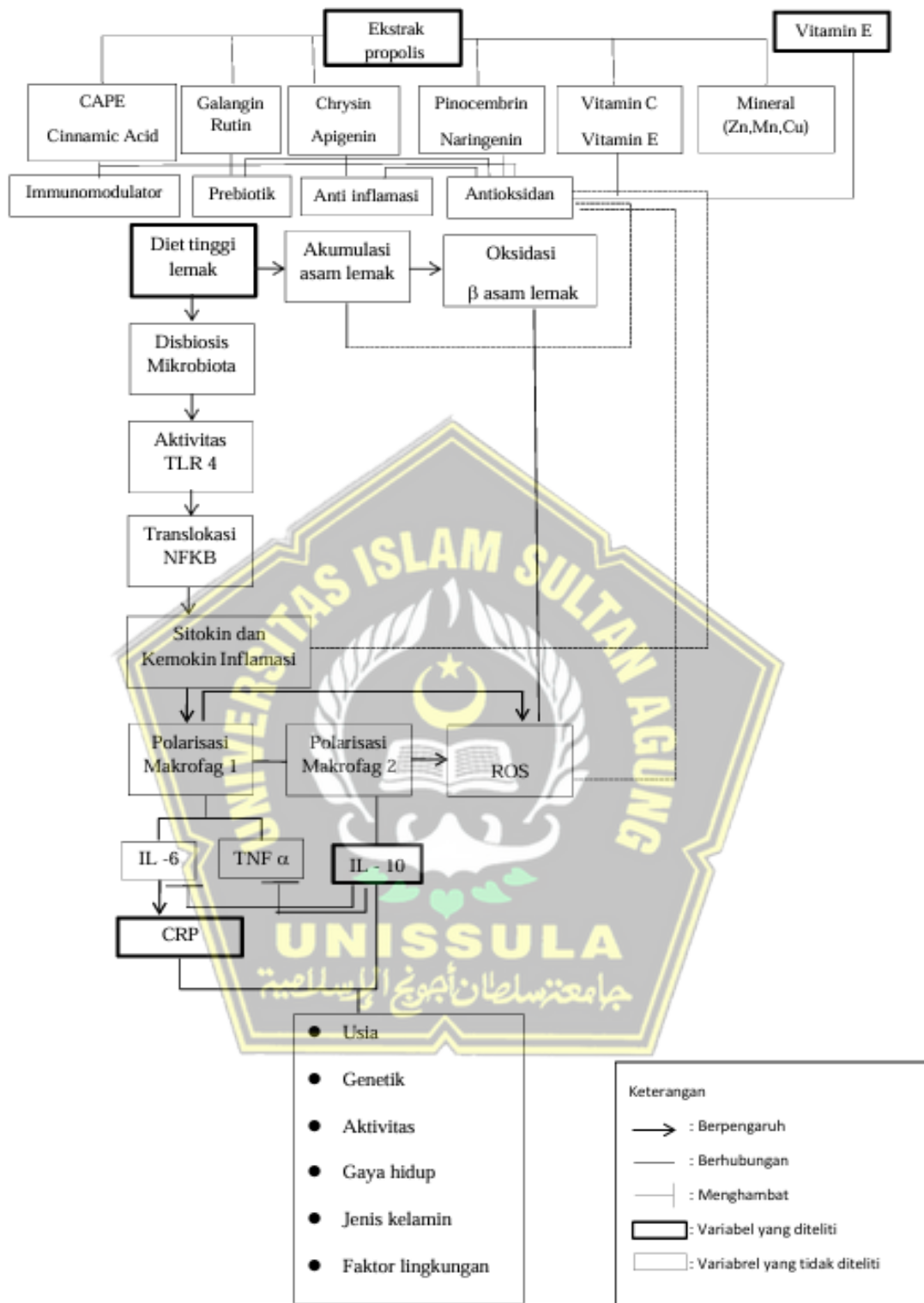
3.1. Kerangka Teori

Diet tinggi lemak dapat menyebabkan akumulasi asam lemak yang selanjutnya mengalami oksidasi β sehingga meningkatkan aktivitas NADPH oksidase dan menghasilkan reactive oxygen species (ROS) berlebih. Kondisi ini menimbulkan stres metabolik yang ditandai dengan disfungsi mitokondria, stres retikulum endoplasma, dan gangguan proses autofagi yang berujung pada kerusakan sel serta disfungsi vaskular. Selain itu, konsumsi lemak berlebih juga mengubah komposisi mikrobiota usus yang memicu aktivasi TLR4 dan berlanjut pada aktivasi NF κ B. Aktivasi jalur NF κ B menyebabkan translokasi ke inti sel dan meningkatkan produksi sitokin serta kemokin inflamasi, yang memengaruhi polaritas makrofag menjadi fenotipe M1 proinflamasi.⁴⁻⁶ Hal ini meningkatkan kadar CRP dan menekan kadar IL-10, sehingga memperkuat respons inflamasi. Sebaliknya, regulasi yang mengarah pada polaritas makrofag M2 bersifat antiinflamasi dan dapat menekan kerusakan jaringan melalui peningkatan IL-10.⁹⁻²⁵ Dalam kondisi normal, tubuh memiliki mekanisme pertahanan melalui aktivasi Nrf2 yang berfungsi menstimulasi ekspresi gen antioksidan endogen, namun pada keadaan stres metabolik berat mekanisme ini tidak optimal sehingga ketidakseimbangan antara stres oksidatif dan pertahanan sel semakin memperparah inflamasi. Intervensi dengan propolis yang mengandung flavonoid dan asam fenolik serta vitamin E sebagai

antioksidan lipofilik berperan dalam menekan ROS, menghambat aktivasi NF κ B, meningkatkan ekspresi IL-10, serta mendukung aktivasi Nrf2.⁴⁰

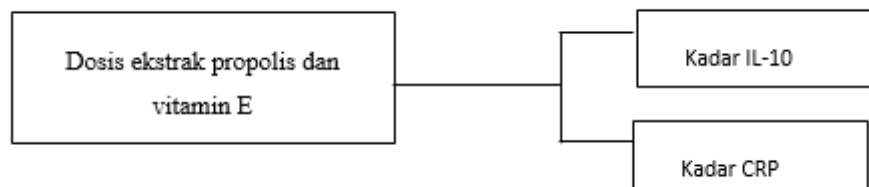
Kombinasi keduanya diharapkan mampu menurunkan CRP, memperbaiki fungsi mitokondria, menyeimbangkan respon imun, dan mengurangi dampak inflamasi serta stres metabolik akibat diet tinggi lemak.¹⁵⁻⁵¹





Gambar 3.1. Kerangka Teori

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

Terdapat pengaruh kombinasi ekstrak propolis dan vitamin E terhadap kadar interleukin 10 (IL-10) dan C-Reactive Protein (CRP) pada tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi diet tinggi lemak.

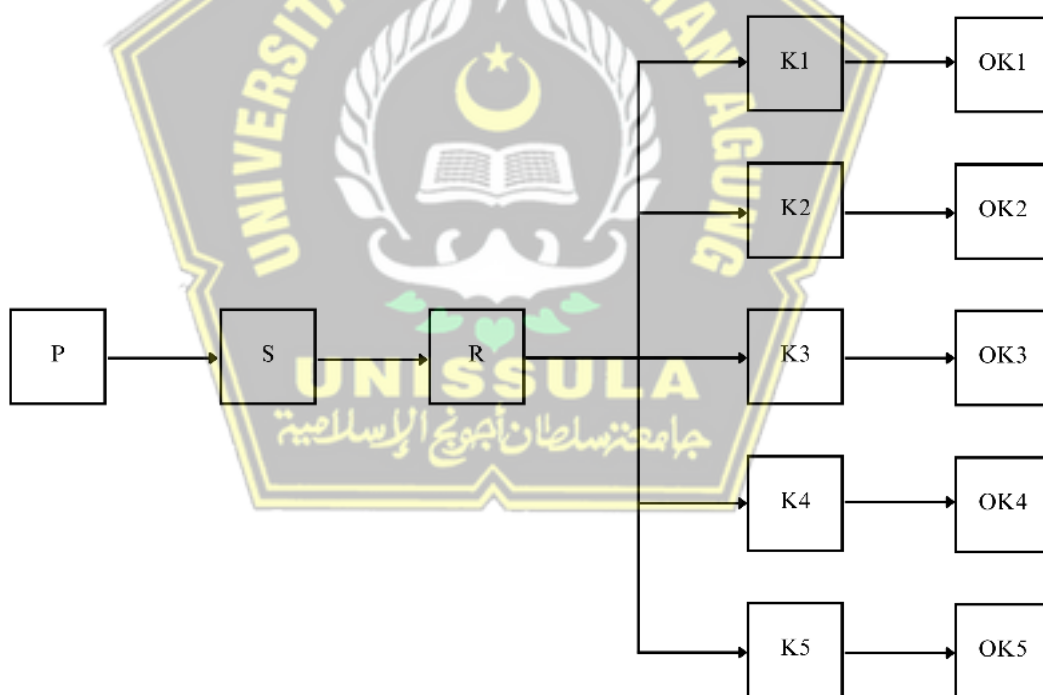


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan hewan coba tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*). Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post-test only control group design*. Subjek penelitian dibagi secara acak ke dalam 5 kelompok, yang terdiri dari 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dan dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

- P = Populasi penelitian
- S = Subyek penelitian
- R = Random alokasi

- K1 = Kelompok kontrol sehat (tanpa diinduksi diet tinggi lemak)
- K2 = Kelompok kontrol negatif (diinduksi diet tinggi lemak)
- K3 = Kelompok perlakuan 1 (diinduksi diet tinggi lemak dan diberi vitamin E dengan dosis 12 mg/ KgBB/ hari selama 14 hari)
- K4 = Kelompok perlakuan 2 (diinduksi diet tinggi lemak dan diberi ekstrak propolis dengan dosis 36 mg/ KgBB/ hari selama 14 hari)
- K5 = Kelompok perlakuan 3 (diinduksi diet tinggi lemak, diberi vitamin E dengan dosis 6 mg/ KgBB/ hari dan ekstrak propolis dengan dosis 18 mg/ KgBB/ hari dan selama 14 hari)
- OK1 = Observasi kadar IL-10 dan CRP kelompok kontrol sehat (K1)
- OK2 = Observasi kadar IL-10 dan CRP kelompok kontrol negatif (K2)
- OK3 = Observasi kadar IL-10 dan CRP kelompok perlakuan 1 (K3)
- OK4 = Observasi kadar IL-10 dan CRP kelompok perlakuan 2 (K4)
- OK5 = Observasi kadar IL-10 dan CRP kelompok perlakuan 3 (K5)

4.2. Populasi dan Teknik Pengambilan Sampel

4.2.1. Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini berupa sejumlah tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang memenuhi kriteria inklusi dan sudah diaklimatisasi pada kondisi lingkungan laboratorium, di Laboratorium *Intregrated Biomedical Laboratory* (IBL) Fakultas Kedokteran (FK) Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang.

4.2.2. Besar Sampel

Berdasarkan rumus Federer (1963) untuk uji eksperimental, sampel penelitian didapatkan dari perhitungan berikut:

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

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$n \geq 4,75 \cong 5$$

Keterangan:

p = Jumlah kelompok perlakuan

n = Jumlah sampel tiap kelompok

Berdasarkan hasil perhitungan, jumlah sampel untuk setiap kelompok adalah 5 ekor tikus. Antisipasi *drop out* sebesar 10% perlu diperhitungkan dengan rumus koreksi berikut:

$$n_{do} = \frac{n}{1 - do} = \frac{5}{1 - 0,1} = 5,6 \cong 6$$

Sehingga jumlah sampel pada penelitian ini berjumlah 30 ekor tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*).

4.2.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan dengan metode *simple random sampling*.

4.2.4. Kriteria Inklusi

1. Usia 10-12 minggu
2. Berat 200-220 gram
3. Kondisi sehat, aktif, dan tidak ada kelainan anatomis

4.2.5. Kriteria Eksklusi

1. Tikus yang sakit/ mati selama penelitian

4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel

1. Variabel bebas : Ekstrak propolis dan vitamin E
2. Variabel terikat : Kadar IL-10 dan CRP
3. Variabel prakondisi : Diet tinggi lemak

4.3.2. Definisi Operasional

1. Ekstrak Propolis

Ekstrak propolis yang digunakan merupakan produk HDI PROPOELIX™ produksi PT. Harmoni Dinamik Indonesia dengan sediaan 200 mg per kapsul. Dosis yang diberikan kepada tikus adalah 18 mg/ KgBB/ hari dan 36 mg/ KgBB/ hari, yang diperoleh melalui konversi dosis manusia (200 mg dan 400 mg) ke dosis tikus dengan berat badan sekitar 200 g.⁵² Pemberian ekstrak propolis dilakukan melalui sonde oral setiap hari selama 14 hari.

Skala : Nominal

2. Vitamin E

Vitamin E yang digunakan adalah vitamin E dalam bentuk alami yaitu d- α tokoferol, produk Natur-E Skin Start produksi PT. Darya-Varia Laboratoria Tbk dengan sediaan 100 IU per kapsul. Dosis yang diberikan kepada tikus adalah 6 mg/ KgBB/ hari dan 12 mg/ KgBB/ hari, yang diperoleh melalui perhitungan konversi satuan IU ke mg (1 IU = 0,67 mg) dan konversi dosis

manusia (100 IU dan 200 IU) ke dosis tikus dengan berat badan sekitar 200 g.¹⁶ Pemberian suplemen vitamin E dilakukan melalui sonde oral setiap hari selama 14 hari.

Skala : Nominal

3. Kadar *Interleukin 10* (IL-10)

Kadar IL-10 merupakan hasil pengukuran kadar IL-10 dari sampel serum yang diambil dari pleksus sinus orbital pada hari ke-15 setelah diberikan perlakuan dan dianalisis menggunakan metode ELISA dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm dengan satuan nanogram/mililiter (ng/mL).⁵³⁻⁵⁴

Skala : Rasio

4. Kadar *C-Reactive Protein* (CRP)

Kadar CRP merupakan hasil pengukuran kadar CRP sampel serum yang diambil dari pleksus sinus orbital pada hari ke-15 setelah diberikan perlakuan dan dianalisis menggunakan metode ELISA dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm dengan satuan nanogram/mililiter (ng/ mL).⁵⁵⁻⁵⁶

Skala : Rasio

4.4. Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1. Alat

Alat yang digunakan:

1. Kandang tikus beserta tempat pakan dengan ukuran P: 40 cm, L: 30 cm, T: 20 cm
2. Timbangan
3. Alat sonde
4. Mikropipet
5. Mikropipet tip ukuran 100 μ L dan 10 μ L
6. Pipa hematokrit
7. *Vial tube* ukuran 1,5 mL
8. *Sentrifuge*
9. Inkubator
10. ELISA *reader*

4.4.2. Bahan

Bahan yang digunakan:

1. Tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*)
2. Pakan tikus standar
3. *Aquadest*
4. Kuning telur puyuh mentah
5. Ekstrak propolis
6. Vitamin E (d- α tokoferol)
7. Reagen IL-10 ELISA kit

8. Reagen CRP ELISA kit

4.5. Prosedur Penelitian

4.5.1. *Ethical Clearance*

Ethical Clearance untuk penggunaan hewan coba diperoleh dari Komisi Etik Penelitian FK UNISSULA Semarang dengan nomor No. 567/XI/2025/Komisi Bioetik sebelum penelitian dimulai, sebagai persetujuan resmi yang menjamin penelitian dilakukan sesuai dengan standar etika penelitian.

4.5.2. Aklimatisasi

Sebelum perlakuan, sebanyak 30 ekor tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) diaklimatisasi selama 7 hari di Laboratorium IBL FK UNISSULA Semarang. Selama periode aklimatisasi, seluruh tikus diberikan pakan dan minum standar. Setelah aklimatisasi, tikus dibagi ke dalam 5 kelompok secara acak (terdiri dari 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan).

4.5.3. Penetapan Dosis Ekstrak Propolis dan Vitamin E

1. Dosis Ekstrak Propolis

Penentuan dosis ekstrak propolis yang digunakan berdasarkan pada penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa dosis 18 mg/ KgBB/ hari dan 36 mg/ KgBB/ hari terbukti efektif dalam menurunkan kadar CRP pada tikus.³⁹

2. Dosis Vitamin E

Penentuan dosis vitamin E (d- α tokoferol) yang digunakan

berdasarkan pada penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa vitamin E dengan dosis 6 mg/ KgBB/ hari terbukti efektif dalam meningkatkan kadar IL-10 dan menurunkan kadar CRP pada tikus.⁴⁷⁻⁵¹

4.5.4. Komposisi Diet Tinggi Lemak

Diet tinggi lemak terdiri dari kombinasi pakan standar dan kuning telur puyuh mentah. Pakan standar berupa pemberian pelet tikus merk HI-PRO-VITE (berat 40 g/ hari/ tikus) dan *aquadest* (volume 50 mL/ hari/ tikus) secara *ad libitum* yang akan diganti dan dihitung sisanya setiap pagi.

Tabel 4.1. Komposisi Pakan Standar merk HI-PRO-VITE

Komposisi	Kadar
Air	13,1% (max)
Protein kasar	14,0% (min)
Lemak kasar	3,0% (min)
Serat kasar	9,0 (max)
Abu	8,0% (max)
Kalsium	0,7 – 1,2%
Fosfor	0,5% (min)
Urea	N/D
Aflatoksin	60 μ / kg (max)
Lisin	0,63% (min)
Metionin	0,25% (min)

Kuning telur puyuh digunakan sebagai model induksi diet tinggi lemak karena kaya lemak, rasio PUFA/SFA lebih rendah, dan rasio ω -6/ ω -3 lebih tinggi (standar rasio 1-4 : 1) sehingga bersifat pro-inflamasi. Kuning telur puyuh diberikan melalui sonde oral dengan dosis 2 mL/ 200 gBB/ hari.⁵⁷

4.5.5. Pembagian Kelompok Perlakuan

Setelah menjalani aklimatisasi selama 7 hari, 30 ekor tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) dibagi secara acak ke dalam 5 kelompok (K1, K2, K3, K4, K5), dan diberikan perlakuan selama 14 hari sebagai berikut:

1. **Kelompok Sehat (K1):** Diberikan pakan standar dan *aquadest* setiap hari.
2. **Kelompok Kontrol Negatif (K2):** Diberikan pakan standar, *aquadest* dan diinduksi dengan diet tinggi lemak.
3. **Kelompok Perlakuan 1 (K3):** Diberikan pakan standar, *aquadest* dan diinduksi dengan diet tinggi lemak, serta diberikan suplemen vitamin E (d- α tokoferol) dengan dosis 12 mg/ KgBB/ hari melalui sonde oral.
4. **Kelompok Perlakuan 2 (K4):** Diberikan pakan standar, *aquadest* dan diinduksi dengan diet tinggi lemak, serta diberikan ekstrak propolis dengan dosis 36 mg/ KgBB/ hari melalui sonde oral.
5. **Kelompok Perlakuan 3 (K5):** Diberikan pakan standar, *aquadest* dan diinduksi dengan diet tinggi lemak, serta diberikan kombinasi ekstrak propolis dengan dosis 18 mg/ KgBB/ hari dan vitamin E (d- α tokoferol) dengan dosis 6 mg/ KgBB/ hari melalui sonde oral.

4.5.6. Penimbangan Berat Badan

Penimbangan berat badan tikus dilakukan secara berkala pada semua kelompok sebelum dilakukan aklimatisasi, setelah aklimatisasi, setelah 7 hari perlakuan, dan setelah 14 hari perlakuan.

4.5.7. Prosedur Pengambilan Sampel sebagai Spesimen

1. Setelah tikus selesai mendapatkan perlakuan sesuai dengan protokol penelitian, tikus akan dipuasakan selama 12 jam.
2. Pengambilan sampel darah dilakukan dari area pleksus retro-orbital menggunakan pipa hematokrit, dengan volume $\pm 1,5$ mL.
3. Darah yang telah diambil disimpan dalam *vial tube* bersih tanpa antikoagulan (*red top*) untuk selanjutnya dilakukan preparasi spesimen.

4.5.8. Preparasi Spesimen

1. Darah yang telah ditampung didiamkan pada suhu ruang selama 10-20 menit.
2. Sampel darah kemudian disentrifugasi pada kecepatan 2000-3000 rpm selama 15 menit.
3. Serum darah tikus dipisahkan dan dapat disimpan pada suhu -20°C untuk selanjutnya dianalisis.

4.5.9. Pemeriksaan Profil Lipid

Pemeriksaan profil lipid dilakukan sebagai langkah awal sebelum pemeriksaan kadar IL-10 dan CRP untuk mengevaluasi pengaruh diet tinggi lemak terhadap perubahan kondisi lemak dalam

darah.

4.5.10. Prosedur Pemeriksaan Kadar IL-10 dan CRP

Sampel serum yang telah diperoleh kemudian dianalisis kadar IL-10 dan CRP menggunakan metode ELISA. Analisis ELISA untuk kadar IL-10 dan CRP dilakukan sesuai dengan prosedur yang tertera dalam petunjuk reagensia, menggunakan alat *microplate reader* dengan panjang gelombang 450 nm. Tahapan pemeriksaan kadar IL-10 dan CRP adalah sebagai berikut:

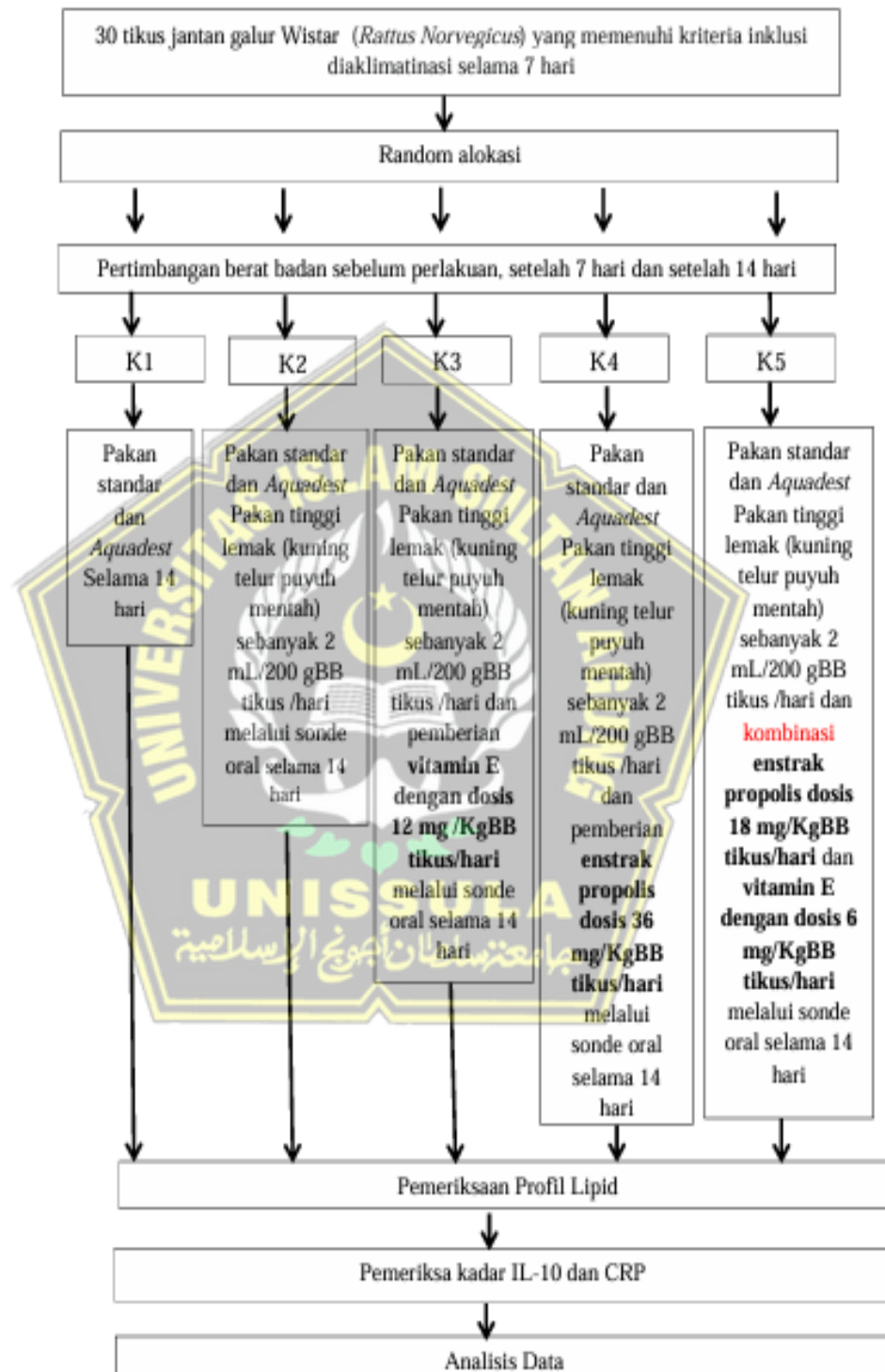
1. Persiapan Reagen:
 - Larutkan *enzyme stock solution* dengan *enzyme diluent* di atas es.
 - Siapkan *substrate application solution* dan *enzyme working solution* sesaat sebelum digunakan.
2. Langkah Pengujian:
 - Tambahkan 20 μL *aquadest* dan 20 μL *enzyme working solution* ke sumur kontrol.
 - Tambahkan 20 μL sampel dan 20 μL *enzyme working solution* ke sumur sampel.
 - Tambahkan 200 μL *substrate application solution* ke semua sumur.
 - Inkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit.
 - Baca nilai *optical density* (OD) pada 450 nm menggunakan *microplate reader*.

3. Perhitungan:

- Hitung rasio dengan rumus yang disediakan sesuai dengan tipe sampel.



4.6. Alur Penelitian



Tabel 4.2. Alur Penelitian

4.7. Analisis Hasil

Data yang diperoleh dari pengujian kadar IL-10 dan CRP selanjutnya akan dianalisis menggunakan program SPSS. Tahap awal meliputi uji statistik deskriptif untuk mendapatkan gambaran umum data. Kemudian, dilakukan uji asumsi klasik, yang terdiri dari uji normalitas data menggunakan uji Shapiro-Wilk dan uji homogenitas varians dengan uji Levene.

Hasil uji asumsi menunjukkan bahwa data IL-10 dan CRP terdistribusi normal dengan varians yang homogen, sehingga analisis dilanjutkan menggunakan uji *One-Way ANOVA*. Hasil uji *One-Way ANOVA* dengan nilai $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan secara statistik pada kadar IL-10 dan CRP antar seluruh kelompok perlakuan. Untuk mengidentifikasi pasangan kelompok yang memiliki perbedaan signifikan, dilakukan uji lanjut uji *post hoc* LSD. Uji *post hoc* LSD akan memperjelas signifikansi perbedaan antar masing-masing kelompok perlakuan.

Data IL-10 dan CRP yang terdistribusi normal namun memiliki varians yang tidak homogen dianalisis menggunakan *One-Way ANOVA (Robust)*. Hasil uji *Robust* dengan nilai $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, sehingga analisis dilanjutkan dengan uji *post hoc Tamhane's T2* untuk mengetahui pasangan kelompok yang berbeda secara signifikan.

Data IL-10 dan CRP yang tidak terdistribusi normal dianalisis menggunakan uji statistik nonparametrik, yaitu *uji Kruskal–Wallis*, untuk menilai perbedaan antar seluruh kelompok perlakuan. Hasil *uji Kruskal–Wallis* dengan nilai $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, sehingga analisis dilanjutkan dengan uji *Mann–Whitney U* dengan penyesuaian nilai p guna mengidentifikasi pasangan kelompok yang memiliki perbedaan signifikan



BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

5.1.1. Gambaran Umum Hewan Coba Penelitian

Subjek penelitian berupa 30 ekor tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) berumur 10–12 minggu dengan berat badan awal berkisar antara 200–220 g yang diperoleh dari Kemuning beserta *Certificate of*

Strains Wistar Rat. Seluruh hewan dinyatakan sehat berdasarkan Surat Keterangan Kesehatan Hewan No. 008/SKKH/XI/2025 dari Dinas Pertanian, Pangan dan Perikanan Kabupaten Karanganyar. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium IBL FK UNISSULA Semarang dengan kondisi ruangan terjaga pada suhu 25 ± 2 °C dan siklus terang–gelap selama 12 jam. Tikus ditempatkan dalam kandang plastik berjeruji logam dengan ventilasi yang baik. Sebelum diberikan perlakuan, seluruh hewan coba menjalani masa aklimatisasi selama 7 hari untuk beradaptasi dengan lingkungan laboratorium. Selama masa penelitian, tikus diberikan pakan standar dan air minum secara *ad libitum*.

Subjek penelitian dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan, yang terdiri dari kelompok sehat yang diberikan pakan standar dan *aquadest* secara *ad libitum* (K1), kelompok kontrol negatif yang diberi pakan standar, *aquadest* dan diinduksi dengan diet tinggi

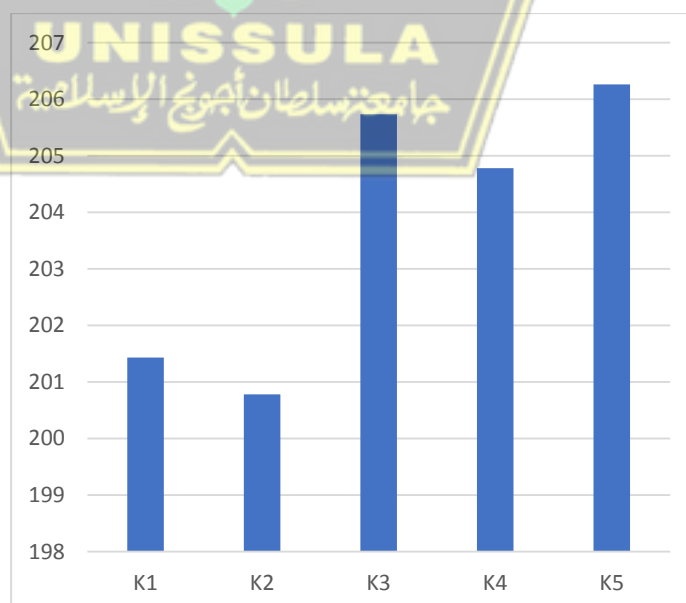
lemak berupa kuning telur puyuh mentah sebanyak 2 mL/ 20 gBB tikus/ hari melalui sonde oral (K2), kelompok yang diberi pakan standar, *aquadest*, diinduksi dengan diet tinggi lemak berupa kuning telur puyuh mentah sebanyak 2 mL/ 20 gBB tikus/ hari, dan vitamin E dengan dosis 12 mg/ kgBB/ hari melalui sonde oral (K3), kelompok yang diberi pakan standar, *aquadest*, diinduksi dengan diet tinggi lemak berupa kuning telur puyuh mentah sebanyak 2 mL/ 20 gBB tikus/ hari, dan ekstrak propolis dengan dosis 36 mg/ kgBB/ hari melalui sonde oral (K4), serta kelompok yang diberi pakan standar, *aquadest*, diinduksi dengan diet tinggi lemak berupa kuning telur puyuh mentah sebanyak 2 mL/ 20 gBB tikus/ hari, dan ekstrak propolis dengan dosis 18 mg/ kgBB/ hari serta vitamin E dengan dosis 6 mg/ kgBB/ hari melalui sonde oral (K5) yang diberikan selama 14 hari. Seluruh hewan coba dapat menyelesaikan penelitian hingga akhir (tidak ada yang mati) sehingga jumlah hewan coba pada masing-masing kelompok tetap sama hingga akhir perlakuan.

Tabel 5.1. Rerata dan Simpangan Baku (Mean \pm SD), Uji Normalitas (*Shapiro-Wilk*), Uji Homogenitas Varians (*Levene*) Berat Badan Tikus (g) sebelum perlakuan

Statistik	K1	K2	K3	K4	K5
<i>Mean</i>	201,43	200,78	205,73	204,78	206,26
<i>Std.Deviation</i>	2,11	0,07	4,27	4,57	4,52
<i>Saphiro-Wilk</i>	0,001	0,212	0,255	0,042	0,040
<i>Levene</i>	0,001				
<i>Kruskal-Wallis</i>	0,006				

Bermakna jika $p < 0.05$

Berdasarkan hasil analisis statistik pada Tabel 5.1, diperoleh nilai rerata dan simpangan baku pada masing-masing kelompok, yaitu K1 sebesar $201,43 \pm 2,11$; K2 sebesar $200,78 \pm 0,07$; K3 sebesar $205,73 \pm 4,27$; K4 sebesar $204,78 \pm 4,57$; dan K5 sebesar $206,26 \pm 4,52$, yang menunjukkan adanya variasi nilai antar kelompok dengan rerata tertinggi pada kelompok K5 dan terendah pada kelompok K2. Uji normalitas menggunakan Shapiro–Wilk menunjukkan bahwa data pada kelompok K2 ($p = 0,212$) dan K3 ($p = 0,255$) berdistribusi normal ($p > 0,05$), sedangkan kelompok K1 ($p = 0,001$), K4 ($p = 0,042$), dan K5 ($p = 0,040$) tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$). Selanjutnya, uji homogenitas varians menggunakan uji Levene menghasilkan nilai signifikansi $p = 0,001$, yang menunjukkan bahwa varians data antar kelompok tidak homogen.



Gambar 5.1. Berat Badan Tikus (g) sebelum perlakuan

5.1.2. Hasil Pemeriksaan Profil Lipid

Berdasarkan hasil analisis uji statistik, profil lipid (kadar kolesterol total, HDL, LDL, dan trigliserida) menunjukkan variasi nilai rerata antar kelompok perlakuan dan dapat dilihat pada Tabel 5.3. Rerata kadar kolesterol total tertinggi ditemukan pada kelompok K2 sebesar $91,50 \pm 23,18$ mg/dL. Rerata kadar kolesterol total paling rendah pada kelompok K5 sebesar $64,00 \pm 18,24$ mg/dL. Hasil uji *Kruskal–Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar kolesterol total yang bermakna secara statistik antar kelompok perlakuan ($p = 0,023$).

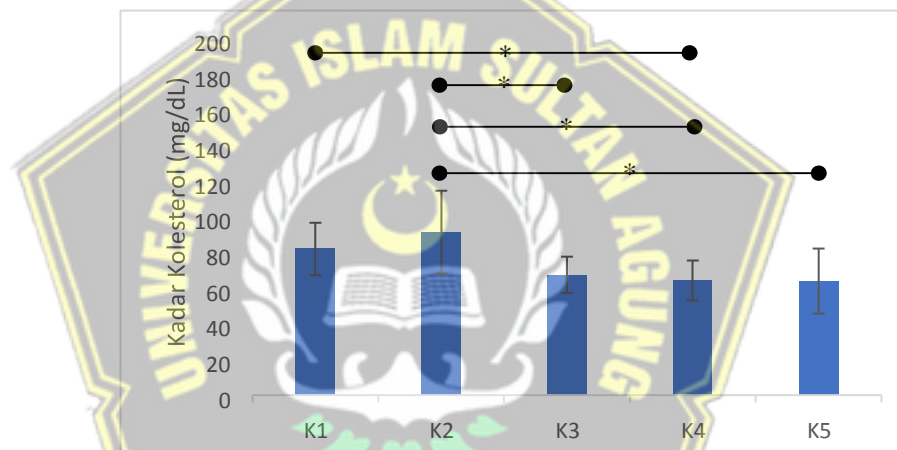
Tabel 5.2. Rerata dan Simpangan Baku (Mean \pm SD), Uji Normalitas (*Shapiro-Wilk*), Uji Homogenitas Varians (*Levene*), dan Uji Perbedaan Profil Lipid (mg/dL) pada Berbagai Kelompok Perlakuan

Profil Lipid	Statistik	K1	K2	K3	K4	K5
Kolesterol	<i>Mean</i>	82.00	91.50	67.50	64.33	64.00
	<i>Std. Deviation</i>	14.71	23.18	10.19	11.20	18.24
	<i>Saphiro-Wilk</i>	0.545*	0.174*	0.001	0.081*	0.614*
	<i>Levene</i>		0.333**			
	<i>Kruskal-Wallis</i>		0.023***			
HDL	<i>Mean</i>	51.33	42.67	39.83	40.50	40.00
	<i>Std. Deviation</i>	12.43	9.13	6.46	6.15	13.03
	<i>Saphiro-Wilk</i>	0.907*	0.863*	0.006	0.198*	0.619*
	<i>Levene</i>		0.169*			
	<i>Kruskal-Wallis</i>		0.431			
LDL	<i>Mean</i>	13	21	10.67	9.83	8.83
	<i>Std. Deviation</i>	3.34	6.78	2.33	3.48	3.31
	<i>Saphiro-Wilk</i>	0.252*	0.108*	0.421*	0.817*	0.093*
	<i>Levene</i>		0.084**			
	<i>One-Way ANOVA</i>		0.000***			
Trigliserida	<i>Mean</i>	85.83	196.50	106.83	66.83	79.00
	<i>Std. Deviation</i>	16.70	75.87	28.63	13.67	35.15
	<i>Saphiro-Wilk</i>	0.500*	0.495*	0.848*	0.798*	0.437*

<i>Levene</i>	0.036
<i>One-Way ANOVA</i>	0.010***

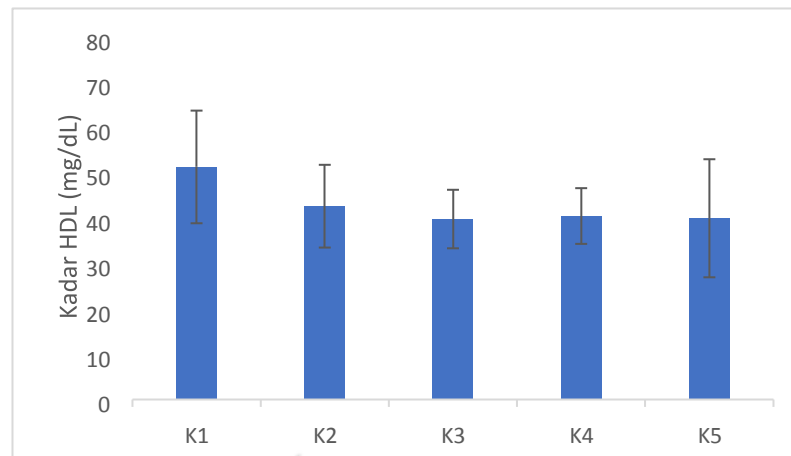
Uji *Saphiro-Wilk** bermakna jika $p > 0.05$, Uji *Levene*** bermakna jika $p > 0.05$, Uji *One-Way Anova/ Robust/ Kruskal-Wallis**** bermakna jika $p < 0,05$

Untuk membedakan kadar kolesterol total (Gambar 5.3) antara 2 kelompok perlakuan, digunakan uji *post hoc Mann Whitney U* yang menunjukkan adanya perbedaan kadar kolesterol yang bermakna pada beberapa kelompok perlakuan.



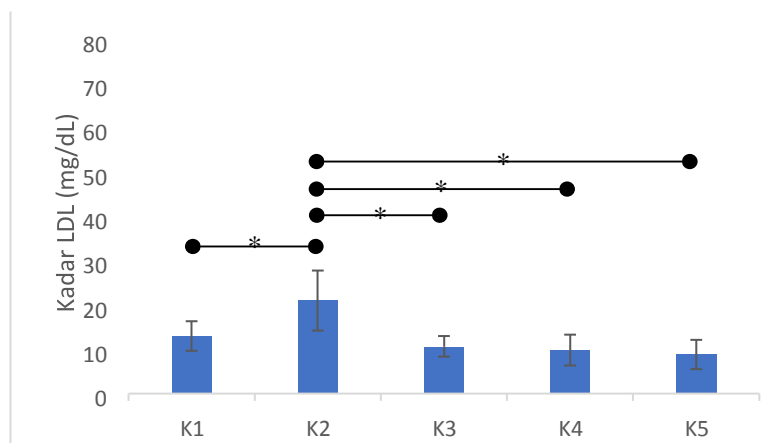
Gambar 5.2. Hasil Analisis Uji Lanjut (*Post Hoc*) Mann Whitney U yang Dilakukan untuk Mengetahui Perbedaan Kadar Kolesterol Total Antar Kelompok (Uji *Post Hoc bermakna jika $p < 0,05$)**

Rerata kadar HDL (Tabel 5.3) tertinggi terdapat pada kelompok K1 sebesar $51,33 \pm 12,43$ mg/dL, dan terendah pada kelompok K3 sebesar $39,83 \pm 6,46$ mg/dL. Uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar HDL yang bermakna secara statistik antar kelompok perlakuan ($p = 0,431$).



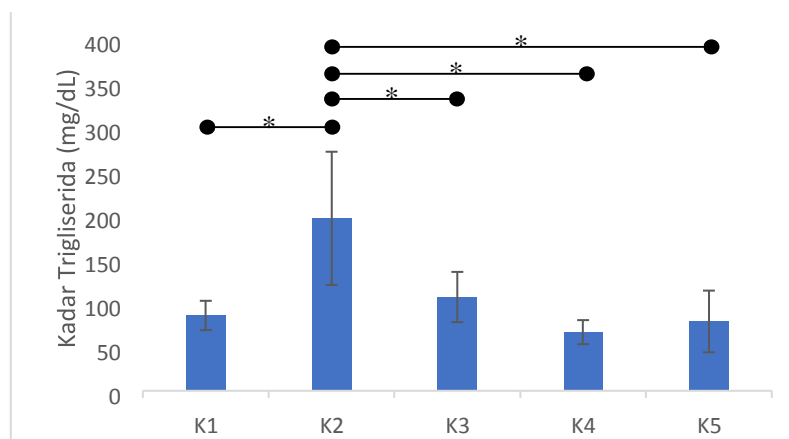
Gambar 5.3. Diagram Batang Kadar HDL Antar Kelompok

Rerata kadar LDL (Tabel 5.3) tertinggi ditemukan pada kelompok K2 sebesar $21,00 \pm 6,78$ mg/dL, dan rerata paling rendah pada kelompok K5 sebesar $8,83 \pm 3,31$ mg/dL. Analisis perbedaan antar kelompok dilakukan menggunakan uji *One-Way ANOVA* yang menunjukkan terdapat perbedaan kadar LDL yang bermakna secara statistik antar kelompok perlakuan ($p = 0,000$). Hasil uji *post hoc* *LSD* untuk kadar LDL (Gambar 5.5) menunjukkan adanya perbedaan kadar LDL yang bermakna pada beberapa kelompok perlakuan.



Gambar 5.4. Hasil Analisis Uji Lanjut (*Post Hoc*) LSD yang Dilakukan untuk Mengetahui Perbedaan Kadar LDL Antar Kelompok (Uji *Post Hoc bermakna jika $p < 0,05$)**

Rerata kadar trigliserida (Tabel 5.3) tertinggi ditemukan pada kelompok K2 sebesar $196,50 \pm 75,87$ mg/dL, dan rerata paling rendah pada kelompok K4 sebesar $66,83 \pm 13,67$ mg/dL. Analisis perbedaan dilakukan menggunakan uji *One-Way ANOVA Robust* yang menunjukkan terdapat perbedaan kadar trigliserida yang bermakna secara statistik antar kelompok perlakuan ($p = 0,010$). Hasil uji lanjut (*Post Hoc*) untuk kadar trigliserida (Gambar 5.6) menunjukkan adanya perbedaan kadar trigliserida yang bermakna pada beberapa kelompok perlakuan.



Gambar 5.5. Hasil Analisis Uji Lanjut (Post Hoc) Tamhane's T2 yang Dilakukan untuk Mengetahui Perbedaan Kadar Trigliserida Antar Kelompok
(Uji *Post Hoc** bermakna jika $p < 0,05$)

5.1.3. Hasil Pemeriksaan Kadar *C-Reactive Protein* (CRP)

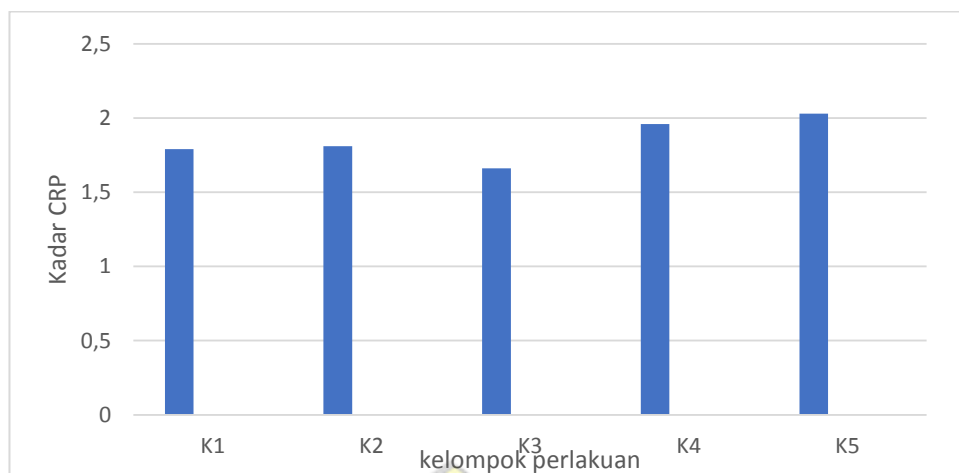
Gambaran rerata kadar CRP pada tiap kelompok beserta hasil analisis normalitas sebaran data, homogenitas varian, dan uji beda rerata antar kelompok ditunjukkan pada Tabel 5.4.

Tabel 5.3. Rerata dan Simpangan Baku (Mean \pm SD), Uji Normalitas (Shapiro-Wilk), Uji Homogenitas Varians (Levene), dan Uji Perbedaan Kadar CRP (ng/mL) pada Berbagai Kelompok Perlakuan

Statistik	K1	K2	K3	K4	K5
<i>Mean</i>	1.790	1.816	1.660	1.968	2.030
<i>Std. Deviation</i>	0.179	0.258	0.210	0.371	0.147
<i>Saphiro-Wilk</i>	0.340*	0.431*	0.698*	0.395*	0.344*
<i>Levene</i>			0.092*		
<i>One-Way ANOVA Robust</i>			0.170*		

Uji *Saphiro-Wilk** bermakna jika $p > 0.05$, Uji *Levene*** bermakna jika $p > 0.05$, Uji *Robust**** bermakna jika $p < 0,05$

Hasil penelitian mendapatkan bahwa kadar CRP tertinggi pada kelompok K5 yaitu sebesar 2.0300 ± 0.14782 ng/mL dan terendah pada K3 yaitu sebesar 1.6600 ± 0.21071 ng/mL. Pada uji *Shapiro Wilk* terhadap kadar CRP pada kelima kelompok mendapatkan nilai $p > 0.05$ yang berarti data kadar CRP normal. Kadar CRP pada kelima pengukuran juga homogen, ditunjukkan dengan nilai p dari *Levene test* sebesar 0.092 atau $p > 0.05$. Syarat sebaran data normal dan homogenitas varian terpenuhi sehingga perbandingan rerata kadar CRP antar kelima kelompok dianalisis dengan uji *one way anova* dan didapatkan nilai 0.170 ($p < 0.05$) tidak signifikan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa meskipun secara deskriptif terdapat perbedaan rerata kadar CRP antar kelompok, dengan nilai tertinggi pada kelompok K5 dan terendah pada K3, perbedaan tersebut secara statistik tidak bermakna. Hal ini dibuktikan melalui uji One Way ANOVA yang menghasilkan nilai p sebesar 0,170 ($p > 0,05$), sehingga tidak terdapat perbedaan rerata kadar CRP yang signifikan antar kelima kelompok perlakuan.



Gambar 5.6. Diagram Batang Kadar CRP Antar Kelompok

5.1.4. Hasil Pemeriksaan Kadar IL-10 (Interleukin-10)

Gambaran rerata kadar IL-10 pada tiap kelompok beserta hasil analisis normalitas sebaran data, homogenitas varian, dan uji beda rerata kadar antar kelompok ditunjukkan:

Tabel 5.4. Rerata dan Simpangan Baku (Mean \pm SD), Uji Normalitas (Shapiro-Wilk), Uji Homogenitas Varians (Levene), dan Uji Perbedaan Kadar IL-10 (mmol/mL) pada Berbagai Kelompok Perlakuan

Statistik	K1	K2	K3	K4	K5
<i>Mean</i>	67.50	46.66	68.01	75.21	77.67
<i>Std.Deviation</i>	6.41	7.62	8.34	9.19	1667
<i>Saphiro-Wilk</i>	0.742*	0.751*	0.227*	0.197*	0.231*
<i>Levene</i>	0.264*				
<i>One-Way ANOVA</i>	0.001***				

Uji *Saphiro-Wilk** bermakna jika $p > 0.05$, Uji *Levene*** bermakna jika $p > 0.05$, Uji *Robust**** bermakna jika $p < 0,05$

Hasil penelitian mendapatkan bahwa kadar IL-10 tertinggi pada kelompok K5 sebesar 77.6740 ± 16.67947 pg/mL dan terendah pada K2 sebesar 46.6620 ± 7.62566 pg/mL. Uji *Shapiro Wilk* terhadap kadar IL-10 pada kelima kelompok mendapatkan nilai $p > 0,05$ yang berarti data kadar IL-10 normal.

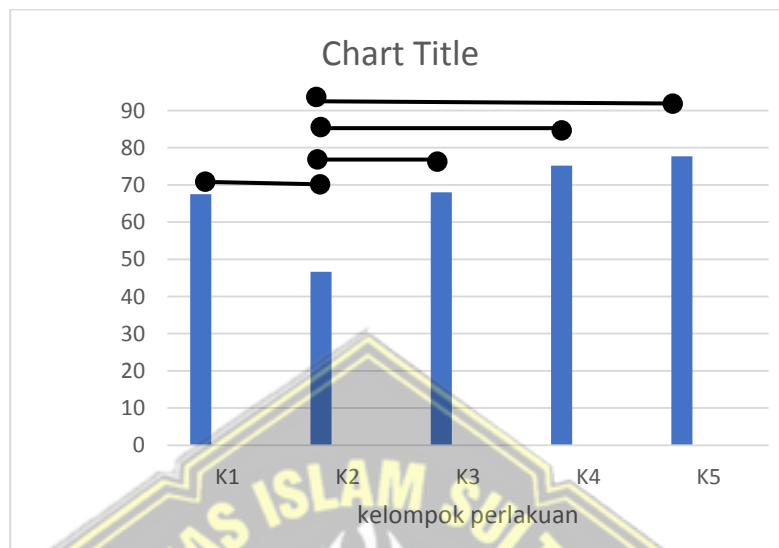
Kadar IL-10 pada kelima pengukuran juga homogen, ditunjukkan dengan nilai p dari *Levene test* sebesar 0.264 atau $p > 0,05$. Syarat sebaran data normal dan homogenitas varian terpenuhi sehingga perbandingan rerata kadar IL-10 antar kelima kelompok dianalisis dengan uji *one way anova* dan kadar IL-10 yang signifikan antara kelompok K1, K2, K3, K4 dan K5.

Tabel 5.5. Hasil Analisis Uji Lanjut (Post Hoc) LSD yang Dilakukan untuk Mengetahui Perbedaan Kadar IL-10 Antar Kelompok (Uji Post Hoc* bermakna jika $p < 0,05$)

Kelompok	K2	K3	K4	K5
K1	0.005*	0.938	0.251	0.135
K2		0.004*	0.000*	0.000*
K3			0.283	0.154
K4				0.710

Hasil uji lanjut (*post hoc*) kadar IL-10 membedakan antar 2 kelompok perlakuan, terdapat perbedaan bermakna antara kelompok K1 dan K2 ($p = 0,005$). Kelompok K2 juga menunjukkan perbedaan signifikan dibandingkan kelompok K3, K4, dan K5 ($p < 0,05$). Sebaliknya, tidak ditemukan perbedaan bermakna antara kelompok K1 dengan K3, K4, dan K5 ($p > 0,05$), serta antar kelompok K3, K4, dan K5 ($p > 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa kadar IL-10 pada kelompok perlakuan relatif serupa dan berbeda secara signifikan

dibandingkan kelompok K2



Gambar 5.7. Hasil Analisis Uji Lanjut (Post Hoc) LSD yang Dilakukan untuk Mengetahui Perbedaan Kadar IL-10 Antar Kelompok (Uji Post Hoc* bermakna jika $p < 0,05$)

5.2. Pembahasan

Hasil berat badan menunjukkan bahwa seluruh kelompok mengalami peningkatan berat badan selama periode penelitian. Kelompok kontrol negatif (K2) yang hanya mendapatkan diet tinggi lemak menunjukkan peningkatan berat badan paling tinggi pada hari ke-14 sebesar $203,46 \pm 5,13$ g, sedangkan kelompok perlakuan, khususnya kelompok kombinasi ekstrak propolis dan vitamin E (K5) sebesar $200,08 \pm 0,16$ g, menunjukkan peningkatan berat badan paling rendah, bahwa ekstrak propolis dan vitamin E berpotensi berperan dalam mengendalikan peningkatan berat badan akibat diet tinggi lemak, hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya pemberian ekstrak propolis dan vitamin E mampu menekan peningkatan berat badan pada model hewan yang diinduksi diet tinggi lemak melalui

perbaikan metabolisme lipid dan penurunan stres oksidatif. Hasil profil lipid yang menunjukkan bahwa kelompok K2 memiliki kadar kolesterol total, trigliserida, dan LDL tertinggi dibandingkan kelompok lainnya. Sebaliknya, kelompok perlakuan, terutama K4 (ekstrak propolis) dan K5 (kombinasi propolis dan vitamin E), menunjukkan kadar kolesterol total, trigliserida, dan LDL yang lebih rendah. Ini menunjukkan bahwa ekstrak propolis dan vitamin E memiliki efek hipolipidemik, yang dapat berkontribusi pada penurunan risiko inflamasi metabolik akibat diet tinggi lemak. Perbaikan profil lipid ini juga berpotensi berperan dalam modulasi respons inflamasi sistemik dan imun.⁵⁸⁻⁵⁹

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan CRP antar kelompok perlakuan ($p > 0,05$). Pemberian ekstrak propolis dan vitamin E pada dosis dan durasi yang digunakan dalam penelitian ini belum mampu memberikan efek anti-inflamasi sistemik yang signifikan. Kadar CRP merupakan protein fase akut yang disintesis oleh hepatosit sebagai respons terhadap aktivasi sitokin pro-inflamasi, khususnya IL-6. Tidak signifikannya perubahan CRP pada penelitian ini dapat mengindikasikan bahwa respons CRP tidak cukup sensitif untuk mendeteksi efek modulasi inflamasi dari ekstrak propolis dan vitamin E dalam periode intervensi yang relatif singkat.²⁵⁻⁵¹⁻⁶⁰

Mekanisme kerja utama ekstrak propolis dan vitamin E lebih dominan pada penekanan stres oksidatif dan modulasi jalur inflamasi, seperti inhibisi aktivasi NF- κ B dan penurunan produksi sitokin pro-inflamasi (misalnya

TNF- α dan IL-6), kadar CRP memerlukan intervensi jangka panjang atau inflamasi dengan intensitas tinggi agar dapat terdeteksi secara signifikan. Hal ini dapat menjelaskan mengapa perbaikan pada level molekuler atau seluler tidak selalu diikuti oleh penurunan CRP yang bermakna. Hasil penelitian ini ada beberapa laporan uji klinis dan meta-analisis terbaru yang menunjukkan bahwa efek ekstrak propolis maupun vitamin E terhadap CRP tidak selalu konsisten, khususnya pada kondisi inflamasi kronik tingkat rendah atau pada populasi dengan kadar CRP yang tidak terlalu tinggi. Hasil beberapa penelitian bahwa meskipun terjadi perbaikan pada marker inflamasi lain, seperti IL-6 atau TNF- α , kadar CRP tetap tidak menunjukkan perubahan signifikan.⁴⁶⁻³⁷⁻⁶⁰

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik pada kadar IL-10 antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Ini mengindikasikan bahwa pemberian ekstrak propolis dan vitamin E mampu memodulasi respons imun anti-inflamasi, dengan peningkatan kadar IL-10 yang merupakan sitokin anti-inflamasi yang berperan dalam menekan produksi sitokin pro-inflamasi, menghambat aktivasi makrofag dan sel T efektor. Peningkatan kadar IL-10 pada penelitian ini menunjukkan bahwa intervensi yang diberikan tidak hanya menekan jalur inflamasi, tetapi juga mengaktifkan mekanisme regulasi imun yang berperan penting dalam pencegahan inflamasi berlebihan.⁴⁶⁻⁶¹

Secara mekanistik, efek peningkatan IL-10 ini dapat dijelaskan melalui aktivitas antioksidan dan imunomodulator ekstrak propolis dan

vitamin E. Propolis mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid dan CAPE yang diketahui mampu menghambat aktivasi NF- κ B serta menggeser respons imun ke arah anti-inflamasi. Vitamin E, sebagai antioksidan lipofilik, berperan dalam menurunkan stres oksidatif dan memodulasi fungsi sel imun, sehingga mendukung peningkatan ekspresi sitokin anti-inflamasi, termasuk IL-10.⁴³⁻⁶²

Dari hasil penelitian ini bahwa IL-10 merupakan marker yang lebih sensitif dibandingkan CRP dalam menilai efek intervensi nutraseutikal yang bersifat modulator. Berbeda dengan CRP yang merupakan protein fase akut dan lebih merefleksikan inflamasi sistemik berat, IL-10 perubahan regulasi imun pada tingkat seluler dan molekuler, sehingga lebih responsif terhadap intervensi antioksidan dan anti-inflamasi ringan hingga sedang.⁶³⁻⁶⁴

Dalam pembahasan hasil penelitian ini, beberapa keterbatasan dapat memengaruhi. Penelitian ini tidak melakukan pengukuran berat badan awal secara terstandar maupun pemantauan perubahan berat badan dan aktivitas fisik responden selama periode penelitian. Perubahan indeks massa tubuh berkaitan erat dengan perubahan profil metabolik dan risiko kardiometabolik, sedangkan aktivitas fisik berkontribusi terhadap perbaikan sensitivitas insulin, profil lipid, serta penurunan mediator inflamasi sistemik. Tidak dikontrolnya faktor-faktor tersebut berpotensi menimbulkan bias atau variabel perancu, termasuk kemungkinan adanya perbedaan berat badan antar responden sebelum penelitian yang dapat memengaruhi respons terhadap variabel yang diteliti. Keterbatasan lainnya adalah penggunaan

biomarker yang masih terbatas, sehingga belum sepenuhnya menggambarkan kompleksitas mekanisme patofisiologis yang terjadi, karena pendekatan multimarker saat ini lebih dianjurkan dalam penelitian klinis untuk memperkuat akurasi interpretasi dan validitas eksternal.⁴³⁻⁶²⁻⁶³⁻

64



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Kesimpulan menunjukkan:

1. Pemberian ekstrak propolis dan vitamin E, baik secara tunggal maupun kombinasi, tidak menunjukkan pengaruh yang bermakna secara statistik terhadap kadar C-Reactive Protein (CRP) pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi diet tinggi lemak ($p > 0,05$).
2. Pemberian ekstrak propolis dan vitamin E menunjukkan pengaruh yang bermakna terhadap peningkatan kadar Interleukin-10 (IL-10) pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi diet tinggi lemak ($p < 0,05$), dengan kadar IL-10 tertinggi ditemukan pada kelompok yang mendapat kombinasi ekstrak propolis dan vitamin E.
3. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak propolis dan vitamin E lebih berperan dalam meningkatkan respons antiinflamasi IL-10 dibandingkan dalam menurunkan penanda inflamasi sistemik akut berupa CRP pada kondisi dan durasi penelitian ini.

6.2. Saran

Saran yang peneliti ajukan untuk mendatang yaitu:

1. Disarankan untuk meneliti pengaruh ekstrak propolis dan vitamin E terhadap kadar IL-10 dan CRP dalam durasi intervensi yang lebih lama, untuk menggambarkan kondisi inflamasi kronis dan memungkinkan deteksi perubahan penanda inflamasi sistemik, khususnya CRP.



DAFTAR PUSTAKA

1. Rahmawati A, Biologi J, Sains F, Teknologi D. *Mekanisme Terjadinya Inflamasi Dan Stres Oksidatif Pada Obesitas*. Vol 5.; 2024.
2. Gkrinia EMM, Belančić A. The Mechanisms of Chronic Inflammation in Obesity and Potential Therapeutic Strategies: A Narrative Review. *Curr Issues Mol Biol*. 2025;47(5):1-15. doi:10.3390/cimb47050357
3. Hariri N, Thibault L, Hariri N, Thibault L. High - fat diet - induced obesity in animal models High-fat diet-induced obesity in animal models *Nutrition Research Reviews*. 2022;(October 2010). doi:10.1017/S0954422410000168
4. Tan BL, Norhaizan ME. Inflammatory Response and Cognitive Function. *Nutrients*. 2024;11(2579):1-22.
5. Gkrinia EMM, Belančić A. The Mechanisms of Chronic Inflammation in Obesity and Potential Therapeutic Strategies: A Narrative Review. *Curr Issues Mol Biol*. 2025;47(5). doi:10.3390/cimb47050357
6. Moghbeli M, Khedmatgozar H, Yadegari M, Avan A, Ferns GA, Ghayour Mobarhan M. *Cytokines and the Immune Response in Obesity-Related Disorders*. Vol 101. 1st ed. Elsevier Inc.; 2021. doi:10.1016/bs.acc.2020.06.004
7. Yuan H, Li Y, Ling F, et al. The phytochemical epigallocatechin gallate prolongs the lifespan by improving lipid metabolism, reducing inflammation and oxidative stress in high-fat diet-fed obese rats. *Aging Cell*. 2020;19(9):1-17. doi:10.1111/accel.13199
8. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection. *Front Immunol*. 2023;9(APR). doi:10.3389/fimmu.2023.00754
9. Kondo H, Abe I, Gotoh K, et al. Interleukin 10 Treatment Ameliorates High-Fat Diet-Induced Inflammatory Atrial Remodeling and Fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2023;11(5):e006040. doi:10.1161/CIRCEP.117.006040
10. Ni G, Wang T, Walton S, et al. Manipulating IL-10 signalling blockade for better immunotherapy. *Cell Immunol*. 2025;293(2):126-129. doi:10.1016/j.cellimm.2024.12.012
11. Waly A, Abo El-Azayem E, Zedan A, Younan G, El- Komy H, Mohamed R. Effect of Vitamin E or Propolis Addition on Alleviation of Heat Stress Impact on Growing Rabbits. *Egypt J Nutr Feed*. 2023;26(3):319-328. doi:10.21608/ejnf.2023.332910
12. Chermut TR, Fonseca L, Figueiredo N, et al. Effects of propolis on inflammation markers in patients undergoing hemodialysis: A randomized, double-blind controlled clinical trial. *Complement Ther Clin Pract*. Published online 2023. doi:10.1016/j.ctcp.2023.101732
13. Saputro AA, Nasihun T, Hussaana A. Propolis Extracted Using CMCE Decreases TNF- α and C-Reactive Protein level of CC14- Induced Liver Damage in Rats. *Sains Med J Kedokt dan Kesehat*. 2021;12(1):1-6.
14. Haleagrahara N, Swaminathan M, Chakravarthi S, Radhakrishnan A.

- Therapeutic Efficacy of Vitamin E Tocotrienol in Collagen-Induced Rat Model of Arthritis. *Biomed Res Int.* 2024;2024:1-8. <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/539540/>
15. Hashem NM, El-Hady AA, Hassan O. Effect of vitamin E or propolis supplementation on semen quality, oxidative status and hemato-biochemical changes of rabbit bucks during hot season. *Livest Sci.* 2013;157(2-3):520-526. doi:10.1016/j.livsci.2023.09.003
 16. Schwab S, Zierer A, Schneider A, et al. Vitamin e supplementation is associated with lower levels of C-reactive protein only in higher dosages and combined with other antioxidants: The Cooperative Health Research in the Region of Augsburg (KORA) F4 study. *Br J Nutr.* 2025;113(11):1782-1791. doi:10.1017/S0007114515000902
 17. Magnavacca A, Sangiovanni E, Racagni G, Dell'Agli M. The antiviral and immunomodulatory activities of propolis: An update and future perspectives for respiratory diseases. *Med Res Rev.* 2022;42(2):897-945. doi:10.1002/med.21866
 18. Roziana R, Subagio HW, Suhartono S, Widyastiti NS. Pengaruh suplementasi vitamin e (α -tokoferol) terhadap kadar gamma glutamil transferase (ggt) dan kadar nitric oxide (no) pada tikus (Studi pada tikus rattus novergicus strain wistar jantan terpapar inhalasi uap benzene). *J Gizi Indones (The Indones J Nutr.* 2022;3(2):73-79. doi:10.14710/jgi.3.2.73-79
 19. Daleprane JB, Abdalla DS. Emerging roles of propolis: Antioxidant, cardioprotective, and antiangiogenic actions. *Evidence-based Complement Altern Med.* 2023;2023. doi:10.1155/2013/175135
 20. Ouyang W, O'Garra A. IL-10 Family Cytokines IL-10 and IL-22: from Basic Science to Clinical Translation. *Immunity.* 2019;50(4):871-891. doi:10.1016/j.immuni.2021.03.020
 21. Saraiva M, Vieira P, O'Garra A. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *J Exp Med.* 2020;217(1):1-19. doi:10.1084/jem_20190418
 22. Wu N, Sun H, Zhao X, et al. MAP3K2-regulated intestinal stromal cells define a distinct stem cell niche. *Nature.* 2021;592(7855):606-610. doi:10.1038/s41586-021-03283-y
 23. Koga Y, Tsurumaki H, Aoki-Saito H, et al. Roles of cyclic AMP response element binding activation in the ERK1/2 and p38 MAPK signalling pathway in central nervous system, cardiovascular system, osteoclast differentiation and mucin and cytokine production. *Int J Mol Sci.* 2021;20(6):1-23. doi:10.3390/ijms20061346
 24. Dewi S, Sari P, Listiyaningsih E, Mawanti WT. Anti-Inflammatory Cytokine (IL-10) Profiles and Ratio of IL-6 / IL-10 in Covid-19 Patients. 2024;5(1):1-8. doi:10.24853/mmj.5.1.1-8
 25. Bastian B, Sari I, Pratama FP. Analysis of C-Reactive Protein (CRP) Levels in Venous and Capillary Blood Samples with Immunoturbidimetric Methods. *Medicra (Journal Med Lab Sci.* 2022;5(1):1-5. doi:10.21070/medicra.v5i1.1622
 26. Sitepu NB, Harahap U. The Role Of hs-CRP In Predicting The Likelihood Of Coronary Heart Disease. *Indones J Pharm Clin Res.* 2020;3(1):51-61.

- doi:10.32734/idjpcr.v3i1.4015
27. Coperchini F, Greco A, Teliti M, et al. Cytokine and Growth Factor Reviews Inflamm-ageing : How cytokines and nutrition shape the trajectory of ageing. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2025;82(July 2024):31-42. doi:10.1016/j.cytogfr.2024.08.004
 28. Devina Adira Azzahra, Septi Puspita Kurniawati, Juwita Ramadhani Octavianingrum, Liss Dyah Dewi Arini. Peran Hormon Kortikosteroid dalam Regulasi Metabolisme dan Respons Stres pada Manusia. *Nian Tana Sikk J ilmiah Mahasiswa.* 2025;3(2):07-13. doi:10.59603/niantanasikka.v3i2.733
 29. Freitas RDS, Maria C, Silva DS, et al. Syndrome : Insights into Older Adults ' Clinical Characteristics. Published online 2024:1-13.
 30. Pérez IM, Ricardo C, Hakim R, Diego B, Pascual A. Does Lifelong Exercise Counteract Low - Grade Inflammation Associated with Aging? A Systematic Review and Meta - Analysis. *Sport Med.* 2025;55(3):675-696. doi:10.1007/s40279-024-02152-8
 31. Mathot E, Hemadeh A, Knoop V, et al. The effect of physical interventions in older adults on inflammatory markers (IL-6 , IL-10 , CRP , TNF- α): an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. 2025;9(June).
 32. Yang H, Xiao J. Sex Differences in the Association Between TNF- α) and Frailty in Hospitalized Adults Aged \geq 65 in Taizhou , China : A Cross-Sectional Study. 2025;(December):2267-2281.
 33. Ismail H, Mubashar Z, Khan H, et al. Effects of a High Trans Fatty Acid Diet on Kidney-, Liver-, and Heart-Associated Diseases in a Rabbit Model. *Metabolites.* 2024;14(8). doi:10.3390/metabo14080442
 34. Jebari-benslaiman S, Galicia-garc U, Larrea-sebal A, Olaetxea JR. Pathophysiology of Atherosclerosis. Published online 2022:1-38.
 35. Zheng L, Yang L, Guo Z, Yao N, Zhang S, Pu P. Obesity and its impact on female reproductive health : unraveling the connections. 2024;(January):1-9. doi:10.3389/fendo.2023.1326546
 36. Ngo V, Duennwald ML. Nrf2 and Oxidative Stress: A General Overview of Mechanisms and Implications in Human Disease. *Antioxidants.* 2022;11(12). doi:10.3390/antiox11122345
 37. Bahari H, Shahraki Jazinaki M, Aliakbarian M, et al. Propolis supplementation on inflammatory and oxidative stress biomarkers in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Front Nutr.* 2025;12(May). doi:10.3389/fnut.2025.1542184
 38. Abdul Mohsin H, Qazzaz ME, Alfahad M. Role of Bee Propolis and Vitamin E in Attenuating Doxorubicin-induced Hepatic Toxicity in Rats. *Al-Anbar Med J.* 2025;21(2):97-103. doi:10.33091/amj.2025.154646.1968
 39. Zuhendri F, Lesmana R, Tandean S, et al. Recent Update on the Anti-Inflammatory Activities of Propolis. *Molecules.* 2022;27(23):1-61. doi:10.3390/molecules27238473
 40. 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- κ B Pathways. *Foods.* 2022;11(16). doi:10.3390/foods11162439

41. Anjum SI, Ullah A, Khan KA, et al. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi J Biol Sci.* 2024;26(7):1695-1703. doi:10.1016/j.sjbs.2023.08.013
42. Baptista BG, Fanton S, Ribeiro M, et al. The effect of Brazilian Green Propolis extract on inflammation in patients with chronic kidney disease on peritoneal dialysis: A randomised double-blind controlled clinical trial. *Phytomedicine*. Published online 2023. doi:10.1016/j.phymed.2023.154731
43. Karabođa Ā. Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) Suppresses Systemic Inflammation In Rat Trauma Model. *J Apitherapy.* 2023;4(1):31. doi:10.5455/ja.20180702102008
44. Trusheva B, Trunkova D, Bankova V. Different extraction methods of biologically active components from propolis : a preliminary study. 2021;4:1-4. doi:10.1186/1752-153X-1-13
45. Tombokan VD, Moleong MML, Pratiwi AI. Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis (HDI Propoelix™) terhadap Rasio Albumin Kreatinin Urin Pasien DM Tipe II. 2022;14(28):1-9.
46. Asbaghi O, Sadeghian M, Nazarian B, et al. The effect of vitamin E supplementation on selected inflammatory biomarkers in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Sci Rep.* 2020;10(1). doi:10.1038/s41598-020-73741-6
47. Ratnawati R, Zulaikhah ST, Husaana A, Pratama AA. Effect of Tender Coconut Water Powder Enriched with Vitamin E in Preventing Oxidative Stress of Diabetes Male Wistar Rats. *Pharmacogn J .* 2024;16(5):1062-1068. doi:10.5530/pj.2024.16.172
48. Nguyen TTU, Yeom JH, Kim W. Beneficial effects of vitamin e supplementation on endothelial dysfunction, inflammation, and oxidative stress biomarkers in patients receiving hemodialysis: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Mol Sci.* 2021;22(21). doi:10.3390/ijms222111923
49. Hashem NM, El-Hady AA, Hassan O. Effect of vitamin E or propolis supplementation on semen quality, oxidative status and hemato-biochemical changes of rabbit bucks during hot season. *Livest Sci.* 2013;157(2-3):520-526. doi:10.1016/j.livsci.2023.09.003
50. Dworski R, Han W, Blackwell TS, Hoskins A, Freeman ML. Vitamin e prevents NRF2 suppression by allergens in asthmatic alveolar macrophages in vivo. *Free Radic Biol Med.* 2021;51(2):516-521. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2021.04.040
51. Saboori S, Speakman JR, Rad EY, Djafarian K. Effect of vitamin E supplementation on serum C-reactive protein level : a meta-analysis of randomized controlled trials. 2025;(December 2024):1-7. doi:10.1038/ejcn.2024.296
52. Sforcin JM. Biological Properties and Therapeutic Applications of Propolis. 2022;905(November 2025):894-905.
53. Liu C, Chu D, Kalantar-zadeh K, George J, Young HA. Cytokines : From Clinical Significance to Quantification. 2021;2004433. doi:10.1002/advs.202004433

54. Ipandi I, Sa A. Verifikasi Metode ELISA (Enzym Linked Immunosorbent Assay) Verification of The ELISA Method (Enzym Linked Immunosorbent Assay) Volume 5 No . 1 □ 2022.
55. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. 2023;111(12):1805-1812. doi:10.1172/JCI200318921.Introduction
56. Elisa E linked IA, Tabatabaei MS, Ahmed M. Chapter 10. 2022;2508:115-134.
57. Print I, Online I, Ekstrak E, et al. Jurnal Kesehatan Rajawali. 2023;XIII:1-4.
58. Oršoli N, Jurč IL, Odeh D. Effect of Propolis on Diet-Induced Hyperlipidemia and Atherogenic Indices in Mice. Published online 2023.
59. Wang Y, Li H, Zhang Z, et al. The association between vitamin E intake and remnant cholesterol , total cholesterol , high-density lipoprotein cholesterol , and low- density lipoprotein cholesterol in US adults : a cross-sectional study. Published online 2024.
60. Gholami A, Dinarvand N, Hariri M. Propolis supplementation can reduce serum level of interleukin-6, C-reactive protein, and tumor necrosis factor- α : an updated systematic review and dose-response meta-analysis on randomized clinical trials. *J Heal Popul Nutr.* 2024;43(1). doi:10.1186/s41043-024-00600-9
61. Pahlavani N, Malekhamadi M, Firouzi S, et al. Molecular and cellular mechanisms of the effects of Propolis in inflammation , oxidative stress and glycemic control in chronic diseases. Published online 2020:1-12.
62. Heshmatipour H, Vajdi M, Pourteymour F, Tabrizi F, Golpour-hamedani S, Askari G. Effects of Propolis supplementation on inflammation and oxidative stress markers : A GRADE-assessed systematic review and Meta-analysis of clinical trials. *J Funct Foods.* 2025;134(September):107036. doi:10.1016/j.jff.2025.107036
63. Valenzuela RA, Vega-tapia F, Elizalde N, et al. IL-10 and IL-6 / IL-10 as predictive biomarkers for treatment response in non-infectious uveitis. 2025;(May):1-10. doi:10.3389/fimmu.2025.1584905
64. Kushner I, Samols D. A Unifying Biologic Explanation for “ High-Sensitivity ” C-Reactive Protein and “ Low-Grade ” Inflammation. 2020;62(4):442-446. doi:10.1002/acr.20052