

**PENGARUH PEMBERIAN GEL KOMBINASI
EKSTRAK PROPOLIS DAN DEXPANTHENOL
TERHADAP KADAR IL-1 β DAN TGF- β**

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

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Fitriyani Kuswanti

MBK.24.24.010509

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG 2026**

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN GEL KOMBINASI EKSTRAK PROPOLIS DAN DEXPANTHENOL TERHADAP KADAR IL-1 β DAN TGF- β

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

Disusun oleh

Fitriyani Kuswanti

MBK.24.24.010509

dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 03 Februari 2026

dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. dr. Danis Pertiwi, M, Si.Med., Sp.PK
NIK.210.199051

Dr. dr. Setyo Trisnadi, SH., Sp.KF
NIK.210.199049

Mengetahui,

Ketua program studi magister Ilmu Biomedik

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes

NIK. 210198046

LEMBAR PENGESAHAN DEWAN PENGUJI

Laporan Tesis Dengan Judul “PENGARUH PEMBERIAN GEL KOMBINASI EKSTRAK PROPOLIS DAN DEXPANTHENOL TERHADAP KADAR IL-1 β DAN TGF- β (Studi Eksperimental terhadap Tikus Jantan Wistar dengan Model Luka Bakar Derajat II)”.ini telah dipertahankan di depan Penguji Sidang Akhir pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 03 Februari 2026

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

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/ tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 03 Februari 2026



(Fitriyani Kuswanti)

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

Nama : dr. Fitriyani Kuswanti
Tempat/ Tanggal Lahir : Depok, 10 Juni 1989
Jenis Kelamin : Perempuan
Agama : Islam
Status Pernikahan : Menikah

B. Riwayat Pendidikan

TK Tugu Ibu 1993 – 1995
SDN Tugu Ibu 1995 – 2001
SMP Negeri 4 Depok 2001 – 2004
SMA Negeri 2 Depok (Jurusan IPA) 2004 – 2007
S1 Universitas Yarsi 2007 – 2011
Profesi Dokter Universitas Yarsi 2011 – 2013
Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran 2024 – Sekarang
Universitas Islam Sultan Agung Semarang

C. Riwayat Keluarga

Suami : Tria Fibrianto, S.Kom
Anak : Cahyra Aprilia Nadhifa
Safiyya Azkayra Adeeva

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya sehingga penyusun dapat menyelesaikan penyusunan tesis dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN GEL KOMBINASI EKSTRAK PROPOLIS DAN DEXPANTHENOL TERHADAP KADAR IL-1 β DAN TGF- β (Studi Eksperimental terhadap Tikus Jantan Wistar dengan Model Luka Bakar Derajat II)”**.

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

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

5. Dr. dr. Setyo Trisnadi, SH., Sp.KF selaku pembimbing II dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan proposal tesis.
6. Seluruh Dosen Pengajar dan seluruh Staff Prodi Magister Ilmu Biomedik, Lab IBL UNISSULA yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu, memberikan doa dan semangat dalam penyusunan tesis ini.
7. Kedua Orang tua dan Suami Tria Fibrianto, S.Kom serta kedua anak penyusun Chayra Aprilia Nadhifa dan Safiyya Azkayra Adeeva yang selalu mendukung dan memberikan doa sehingga tesis ini dapat terselesaikan.
8. Seluruh Pihak yang terlibat dalam penyusunan tesis ini yang tidak dapat saya sebutkan satu per Satu.

Manusia tidak luput dari kesalahan karena tidak ada manusia yang sempurna di dunia ini, untuk itu penyusun berharap dengan semua kekurangan dalam penulisan tesis ini, tetap dapat memberikan manfaat bagi penyusun, Prodi Ilmu Magister Biomedik FK UNISSULA, serta semua pihak yang berkepentingan.

Akhir kata semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan rahmatNya kepada kita semua. Amin.

Semarang, 03 Februari 2026



Fitriyani Kuswanti

ABSTRAK

Latar Belakang: Ekstrak propolis memiliki aktivitas antiinflamasi dan dexpanthenol berpotensi meregenerasi jaringan sehingga dapat mempengaruhi kadar IL-1 β dan TGF- β pada jaringan luka bakar derajat II. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol terhadap kadar IL-1 β dan TGF- β jaringan kulit luka bakar derajat II.

Metode: Penelitian eksperimental dengan *post-test only control group design*. Subyek penelitian 35 ekor tikus jantan galur Wistar yang dibagi menjadi tujuh kelompok: K1 (kontrol sehat). K2, K3, K4, K5, K6, K7 diinduksi luka bakar derajat II. K3, K4, K5, K6, K7 masing-masing diberi perlakuan selama 7 hari. K3 (silver sulfadiazine 1%), K4 (ekstrak propolis 10%), K5 (dexphantenol 5 %), K6 (kombinasi ekstrak propolis 5% + dexphantenol 2,5%) dan K7 (kombinasi ekstrak propolis 10% + dexphantenol 5%) . Kadar IL-1 β dan TGF- β jaringan kulit diukur menggunakan metode ELISA. Data diuji menggunakan levene`s test dan *Shapiro-Wilk*. Selanjutnya data kadar IL-1 β diuji menggunakan *One way ANOVA* dan *Post Hoc Tukey*. Data kadar TGF- β menggunakan *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney*.

Hasil: Rerata $\pm$ SD kadar IL-1 β (ng/mL) pada K7 dan K6 berturut-turut $16,80 \pm 0,25$ dan $16,94 \pm 0,51$ lebih rendah dibanding K2 namun tidak berbeda bermakna dibanding K2 ($p > 0,05$). Rerata $\pm$ SD kadar TGF- β (ng/L) pada K6 dan K7 berturut-turut sebesar $511,36 \pm 16,44$ dan $535,90 \pm 18,53$ dan berbeda bermakna dibanding K2 ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Pemberian gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol berpengaruh terhadap kadar TGF- β , namun tidak berpengaruh terhadap kadar IL-1 β pada jaringan kulit tikus jantan galur Wistar dengan luka bakar derajat II.

Kata kunci: dexpanthenol, interleukin-1 β , luka bakar derajat II, propolis, transforming growth factor- β

ABSTRACT

Background: Propolis extract has anti-inflammatory activity, and dexpanthenol has the potential to regenerate tissue, thereby potentially affecting IL-1 β and TGF- β levels in second-degree burn wound tissue. This study aimed to determine the effect of administering a combination gel of propolis extract and dexpanthenol on IL-1 β and TGF- β levels in second-degree burn skin tissue.

Methods: This study was an experimental post-test only control group design. The research subjects consisted of 35 male Wistar rats divided into seven groups: G1 (healthy control). G2, G3, G4, G5, G6, and G7 were induced with second-degree burns. G3, G4, G5, G6, and G7 received treatments for 7 days. G3 (1% silver sulfadiazine), G4 (10% propolis extract), G5 (5% dexpanthenol), G6 (combination of 5% propolis extract + 2.5% dexpanthenol), and G7 (combination of 10% propolis extract + 5% dexpanthenol). IL-1 β and TGF- β levels in skin tissue were measured using the ELISA method. Data were tested using Levene's test and Shapiro–Wilk test. IL-1 β levels were analyzed using One-Way ANOVA followed by the Post Hoc Tukey test. TGF- β levels were analyzed using the Kruskal–Wallis and Mann–Whitney tests.

Results: The mean $\pm$ SD of IL-1 β levels (ng/mL) in G7 and G6 were 16.80 ± 0.25 and 16.94 ± 0.51 , respectively, lower than G2 but not significantly different compared to G2 ($p > 0.05$). The mean $\pm$ SD of TGF- β levels (ng/L) in G6 and G7 were 511.36 ± 16.44 and 535.90 ± 18.53 , respectively, and were significantly different compared to G2 ($p < 0.05$).

Conclusion: Administration of the combination gel of propolis extract and dexpanthenol affected TGF- β levels but did not affect IL-1 β levels in the skin tissue of male Wistar rats with second-degree burns.

Keywords: dexpanthenol, interleukin-1 β , second-degree burns, propolis, transforming growth factor- β .

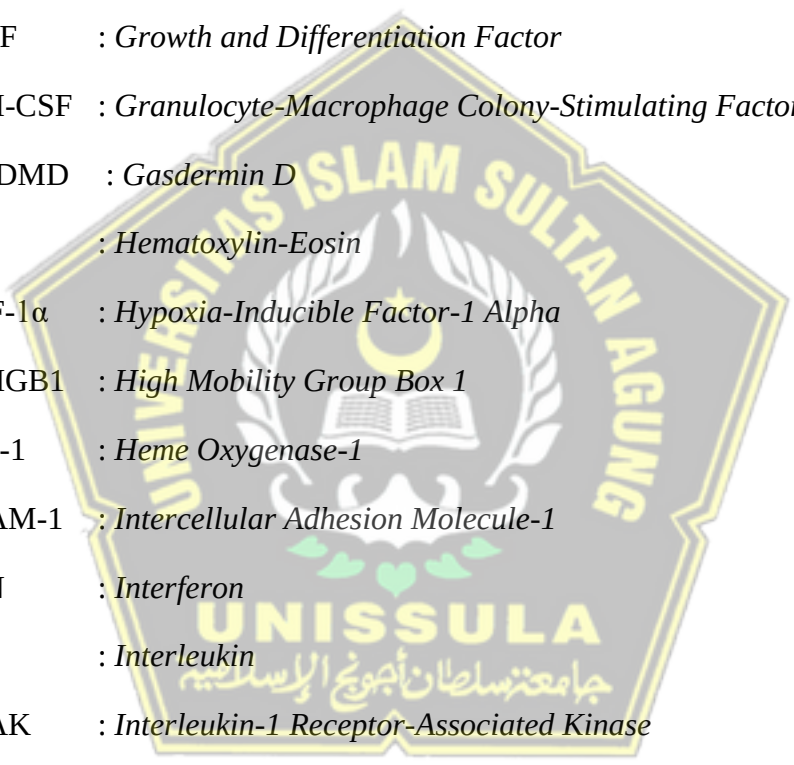
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK	vii
<i>ABSTRACT</i>	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Teoritis	5
1.4.2 Manfaat Praktis	6
1.5 Originalitas Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	11
2.1 <i>Interleukin-1β</i> (IL-1 β).....	11
2.1.1 Definisi.....	11
2.1.2 Sintesis dan Aktivasi IL-1 β	11
2.1.3 Jalur Persinyalan IL-1 β	13
2.1.4 Peran IL-1 β dalam Penyembuhan Luka Bakar	14
2.1.5 Faktor yang Mempengaruhi Kadar IL-1 β	16
2.1.6 Metode Pemeriksaan IL-1 β	18
2.2 TGF- β	19
2.2.1 Definisi.....	19
2.2.2 Biosintesis TGF- β	19
2.2.3 Persinyalan TGF- β	21

2.2.4 Peran TGF- β dalam Penyembuhan Luka Bakar.....	25
2.2.5 Faktor yang Mempengaruhi Kadar TGF- β	26
2.2.6 Metode Pemeriksaan TGF- β	28
2.3 Propolis	28
2.3.1 Definisi.....	28
2.3.2 Kandungan Kimia dan Aktivitas Biologi	29
2.3.3 Peran Propolis dalam Penyembuhan Luka Bakar	32
2.4 Dexpanthenol	33
2.4.1 Definisi.....	33
2.4.2 Peran Dexpanthenol dalam Penyembuhan Luka.....	34
2.5 Silver Sulfadiazine.....	36
2.6 Luka Bakar.....	37
2.6.1 Definisi dan Klasifikasi.....	37
2.6.2 Mekanisme Penyembuhan Luka Bakar.....	39
2.6.3 Patomekanisme Molekular Penyembuhan Luka Bakar	42
2.6.4 Faktor yang Mempengaruhi Penyembuhan Luka	45
2.7 Sediaan Gel.....	48
2.8 Model Hewan Uji.....	49
2.9 Induksi Luka Bakar pada Hewan Uji.....	50
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS.....	52
3.1 Kerangka Teori.....	52
3.2 Kerangka Konsep.....	58
3.3 Hipotesis	58
BAB IV METODE PENELITIAN.....	59
4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	59
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian.....	61
4.2.1 Populasi Subjek Penelitian.....	61
4.2.2 Sampel Penelitian.....	61
4.3 Besar Sampel	62
4.4 Teknik Pengambilan Sampel.....	62
4.5 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	63
4.5.1 Variabel Penelitian	63
4.5.2 Definisi Operasional.....	63
4.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	65
4.6.1 Alat	65
4.6.2 Bahan	66

4.7 Prosedur Penelitian dan Alur Kerja	67
4.7.1 Perolehan <i>Ethical Clearance</i>	67
4.7.2 Ekstrak Propolis dan Dexanthenol	67
4.7.3 Penetapan Konsentrasi Ekstrak	69
4.7.4 Formulasi Gel Kombinasi Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol	69
4.7.5 Prosedur Pembuatan Gel Kombinasi Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol	70
4.7.6 Persiapan Sebelum Perlakuan	72
4.7.7 Induksi Luka Bakar Derajat II.....	73
4.7.8 Pemberian Perlakuan.....	76
4.7.9 Pengambilan Sampel Jaringan Kulit Tikus	76
4.7.10 Pemeriksaan kadar IL-1 β dan TGF- β menggunakan Metode ELISA	77
4.8 Alur Penelitian	79
4.9 Tempat dan Waktu Penelitian	80
4.10 Analisis Data	80
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	81
5.1 Hasil Penelitian	81
5.1.1 Penelitian Pendahuluan Model Luka Bakar pada Tikus	82
5.1.2 Validasi Makroskopis pada Model Luka Bakar	86
5.1.3 Hasil Pemeriksaan Kadar IL-1 β pada Jaringan Kulit.....	89
5.1.4 Hasil Pemeriksaan Kadar TGF- β pada Jaringan Kulit.....	92
5.2 Pembahasan	96
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	107
6.1 Kesimpulan.....	107
6.2 Saran	108
DAFTAR PUSTAKA	110
LAMPIRAN.....	119

DAFTAR SINGKATAN



CAPE	: <i>Caffeic Acid Phenethyl Ester</i>
CoA	: <i>Coenzim A</i>
DAMP	: <i>Damage-Associated Molecular Patterns</i>
ECM	: <i>Extracellular Matrix</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
GARP	: <i>Glycoprotein A Repetitions Predominant</i>
GDF	: <i>Growth and Differentiation Factor</i>
GM-CSF	: <i>Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>
GSDMD	: <i>Gasdermin D</i>
HE	: <i>Hematoxylin-Eosin</i>
HIF-1 α	: <i>Hypoxia-Inducible Factor-1 Alpha</i>
HMGB1	: <i>High Mobility Group Box 1</i>
HO-1	: <i>Heme Oxygenase-1</i>
ICAM-1	: <i>Intercellular Adhesion Molecule-1</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IRAK	: <i>Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase</i>
LAP	: <i>Latency-Associated Peptide</i>
LPS	: <i>Lipopolisakarida</i>
LRRC	: <i>Leucine-Rich Repeat Containing</i>
LTA	: <i>Lipoteichoic Acid</i>
LTBP	: <i>Latent Transforming Growth Factor Beta-Binding Protein</i>
MCP-1	: <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>
MLEC	: <i>Mink Lung Epithelial Cell</i>

MMP	: <i>Matrix Metalloproteinase</i>
MRSA	: <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
NF-κB	: <i>Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of Activated B cells</i>
NLRP3	: <i>NOD-like Receptor Protein 3</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
PAMP	: <i>Pathogen-Associated Molecular Patterns</i>
PBM	: <i>Photobiomodulation</i>
PDGF	: <i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
PRR	: <i>Pattern Recognition Receptor</i>
qPCR	: <i>Quantitative Polymerase Chain Reaction</i>
RGD	: <i>Arginine-Glycine-Aspartic Acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SARA	: <i>SMAD Anchor for Receptor Activation</i>
SBE	: <i>SMAD-Binding Element</i>
SLC	: <i>Small Latent Complex</i>
SMAD	: <i>Mothers Against Decapentaplegic Homolog</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
TBSA	: <i>Total Body Surface Area</i>
TGF-β	: <i>Transforming Growth Factor-Beta</i>
TIMP	: <i>Tissue Inhibitor of Metalloproteinase</i>
TLR	: <i>Toll-like Receptor</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TRAF	: <i>TNF Receptor-Associated Factor</i>
VCAM-1	: <i>Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
vWF	: <i>von Willebrand Factor</i>

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian	6
Tabel 4.1 Formulasi Gel Kombinasi Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol.....	70
Tabel 5.1 Hasil Pemeriksaan Kadar IL-1 β , Uji Shapiro Wilk, Levene's Test dan One Way ANOVA.....	90
Tabel 5.2 Perbedaan Rerata Kadar IL-1 β (Post Hoc Tukey).....	92
Tabel 5.3 Hasil Pemeriksaan Kadar TGF- β , Uji Shapiro Wilk, Levene's Test dan Kruskal-Wallis.....	93
Tabel 5.4 Perbedaan Rerata Kadar TGF- β (Mann-Whitney)	95



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Mekanisme aktivasi inflammasom NLRP3 jalur kanonik dan non-kanonik.....	13
Gambar 2.2 Mekanisme aktivasi persinyalan IL-1 β	14
Gambar 2.3 Mekanisme Persinyalan TGF- β Jalur Kanonik	23
Gambar 2.4 Mekanisme Persinyalan TGF- β Jalur Non-Kanonik.....	24
Gambar 2.5 Patofisiologi Luka Bakar.....	40
Gambar 3.1 Kerangka Teori.....	57
Gambar 3.2 Kerangka Konsep	58
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian	59
Gambar 4.2 Alur Penelitian.....	79
Gambar 5.1 Hasil Pemeriksaan Histologi pada Kulit Normal dan Luka Bakar Derajat II dengan Pewarnaan Hematoksilin–Eosin (a) Kulit tikus tanpa induksi luka bakar menunjukkan epidermis dan dermis dalam kondisi normal dengan struktur jaringan yang utuh; (b) Kulit tikus dengan luka bakar derajat II memperlihatkan erosi epidermis, pembentukan bula subepidermal, serta jejas luka yang meluas hingga sekitar tiga perempat lapisan dermis.	83
Gambar 5.2 Gambaran makroskopik jaringan kulit tikus: (a) Kulit normal; (b) Kulit tikus dengan induksi luka bakar derajat II.	84
Gambar 5.3 Gambaran makroskopik jaringan kulit tikus antar kelompok: (K1) kondisi kulit tikus sehat tanpa induksi luka bakar; (K2–K7) Kondisi kulit tikus pada hari ke-7 setelah pengolesan gel pada luka bakar derajat II.....	86
Gambar 5.4 Grafik Rerata Kadar IL-1 β	92
Gambar 5.5 Grafik Rerata Kadar TGF- β	96

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Etik Penelitian.....	119
Lampiran 2 Surat Izin Penelitian.....	120
Lampiran 3 Surat Keterangan Hewan	121
Lampiran 4 Surat Keterangan Spesifikasi Hewan Uji	122
Lampiran 5 Propolis dan Dexpanthenol.....	123
Lampiran 6 Hasil Pemeriksaan Laboratorium dengan Metode ELISA	126
Lampiran 7 Hasil Penelitian Pendahuluan	127
Lampiran 8 Dokumentasi Penelitian dan Perubahan Kulit Tikus	131
Lampiran 9 Output SPSS	133



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar derajat II merupakan cedera kulit yang ditandai oleh kerusakan epidermis hingga sebagian dermis sehingga dapat mengaktivasi respon inflamasi. Pada fase awal, jaringan yang rusak melepaskan IL-1 β yang memicu dan memperkuat proses inflamasi, sedangkan TGF- β berperan menekan inflamasi dan mendukung proliferasi serta remodeling jaringan.¹ Namun ketidakseimbangan antara IL-1 β yang meningkat beresiko mengalami kerusakan jaringan dan TGF- β yang tidak optimal dapat memperlambat regenerasi serta meningkatkan resiko jaringan parut. Hal ini menyebabkan inflamasi berkepanjangan dan memperlambat penyembuhan luka.^{2,3} Selain itu, terapi konvensional seperti silver sulfadiazine memiliki keterbatasan karena sifat sitotoksiknya terhadap fibroblas dan keratinosit sehingga dapat menghambat regenerasi jaringan.⁴ Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa propolis mampu menurunkan IL-1 β sekaligus meningkatkan TGF- β , sementara dexpanthenol memiliki efek hidrasi yang kuat, memperbaiki sawar kulit dan merangsang regenerasi sel, namun memiliki efek antiinflamasi yang lemah.⁵⁻⁷ Hingga kini, efek kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol dalam bentuk gel terhadap penyembuhan luka bakar derajat II belum diketahui. Oleh karena itu, penelitian ini menilai potensi kombinasi tersebut sebagai terapi topikal yang lebih aman dan efektif melalui pengaturan biomarker IL-1 β dan TGF- β .⁸⁻¹⁰

Luka bakar merupakan masalah kesehatan global dengan angka kematian lebih dari 265.000 jiwa setiap tahun, terutama di negara berpendapatan rendah dan

menengah.¹¹ Di Indonesia, luka bakar menempati peringkat ke-6 penyebab cedera tidak disengaja dengan angka kematian sekitar 195.000 kasus per tahun. Pusat Luka Bakar RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo menangani lebih dari 130 kasus luka bakar setiap tahun, dan anak di bawah lima tahun sebagai kelompok paling rentan.¹² Luka bakar derajat II merupakan kasus yang paling sering dijumpai. Meskipun dapat sembuh secara spontan, luka bakar derajat II membutuhkan waktu pemulihan yang lama dan berisiko menimbulkan komplikasi berupa infeksi, jaringan parut, gangguan fungsi organ, hingga dampak psikologis.^{11,13} Selain itu, berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, kecepatan penyembuhan luka bakar (*heal rate*) bervariasi menurut tingkat keparahan luas luka, yaitu sekitar 0,9% total *body surface area* (TBSA) per hari pada luka bakar dengan luas < 30% TBSA, sedangkan pada luka bakar $\geq 30\%$ TBSA, kecepatan penyembuhan menurun menjadi sekitar 0,3% TBSA per hari, sehingga semakin luas luka bakar maka semakin lambat proses penyembuhannya.¹⁴

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa agen topikal telah dikembangkan dan memiliki potensi dalam mempercepat penyembuhan luka bakar. Propolis mengandung senyawa bioaktif *Caffeic Acid Phenethyl Ester* (CAPE) yang terbukti menurunkan kadar sitokin proinflamasi seperti IL-1 β dan TNF- α serta menekan stres oksidatif melalui regulasi jalur persinyalan SIRT1/PGC1 α /DRP. Selain itu, CAPE dilaporkan meningkatkan ekspresi TGF- β sehingga mempercepat penutupan luka dan remodeling jaringan.^{15,16} Dexpanthenol, di sisi lain bekerja sebagai provitamin B5 yang memiliki efek hidrasi yang kuat pada kulit dengan cara meningkatkan kandungan air di epidermis, mampu meningkatkan kelembapan

kulit, menstimulasi proliferasi fibroblas, mempercepat epitelisasi, serta memodulasi ekspresi gen terkait inflamasi dan penyembuhan seperti IL-6, IL-1 β , CYP1B1, CXCL1, dan CCL18, tetapi efeknya relatif lemah dalam mengendalikan infeksi maupun inflamasi berat, sehingga kurang optimal jika digunakan tunggal pada kondisi luka bakar kompleks. Kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol diduga memberikan efek sinergis dalam memperbaiki keseimbangan IL-1 β dan TGF- β , sehingga mempercepat penyembuhan luka bakar derajat II.^{17,18} Pada studi oleh Dekebo *et al.* (2024), ekstrak propolis topikal 5–10% mempercepat penyembuhan luka pada tikus, dan konsentrasi 10% memberikan hasil paling optimal.⁵ Sementara itu, Yildizhan *et al.* (2022) melaporkan bahwa aplikasi topikal 5% dexpanthenol mampu meningkatkan neovaskularisasi, proliferasi fibroblas, reepitelisasi, dan kepadatan kolagen.¹⁹

Sampai saat ini, kajian mengenai kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol belum ada. Kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol dipilih karena keduanya saling melengkapi dalam mendukung proses penyembuhan luka. Propolis memiliki efek antimikroba dan antiinflamasi yang membantu mencegah infeksi serta menekan respon peradangan, sedangkan dexpanthenol berperan dalam regenerasi jaringan, menjaga kelembapan, dan mempercepat perbaikan kulit, tetapi jika diberikan secara tunggal dexpanthenol kurang efektif menghadapi infeksi atau inflamasi berat.^{10,20} Kombinasi keduanya dinilai lebih rasional, efektif, dan aman. Formulasi gel dipilih karena tidak hanya berfungsi sebagai media penghantaran bahan aktif, tetapi juga memberikan manfaat tambahan berupa pendinginan luka, pengurangan nyeri, menjaga kelembapan, dan perlindungan terhadap infeksi. Oleh

karena itu, penelitian ini diharapkan dapat menghadirkan temuan baru berupa pemanfaatan dalam satu kombinasi formulasi gel kombinasi ekstrak propolis (5–10%) dan dexpanthenol (2,5–5%) untuk mempercepat penyembuhan luka bakar derajat II melalui pengaturan kadar IL-1 β dan TGF- β yang diukur dengan menggunakan metode ELISA.^{21,22} Penelitian ini menggunakan tikus Wistar jantan sebagai hewan coba karena kulitnya memiliki karakteristik yang relatif mirip dengan manusia dan proses penyembuhan luka yang representatif, sementara pemilihan jantan bertujuan meminimalkan pengaruh variasi hormonal.^{23,24} Pendekatan ini memberikan peluang pengembangan alternatif terapi topikal yang lebih aman dan berpotensi lebih efektif dibandingkan terapi konvensional.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol terhadap kadar IL-1 β dan TGF- β pada jaringan kulit tikus jantan Wistar model luka bakar derajat II?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol terhadap kadar IL-1 β dan TGF- β pada jaringan kulit tikus jantan Wistar model luka bakar derajat II.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui rerata kadar IL-1 β pada jaringan kulit tikus jantan wistar sehat, tikus jantan wistar model luka bakar derajat II yang diberi base gel, tikus jantan wistar model luka bakar derajat II yang diberi silver sulfadiazine, tikus jantan wistar model luka bakar derajat II yang diberi gel ekstrak propolis 10%, gel dexpanthenol 5%, kombinasi gel ekstrak propolis 5% dan gel dexpanthenol 2,5%, serta kombinasi gel ekstrak propolis 10% dan dexpanthenol 5%.
2. Mengetahui rerata kadar TGF- β pada jaringan kulit tikus jantan wistar sehat, tikus jantan wistar model luka bakar derajat II yang diberi placebo, tikus jantan wistar model luka bakar derajat II yang diberi silver sulfadiazine, tikus jantan wistar model luka bakar derajat II yang diberi gel ekstrak propolis 10%, gel dexpanthenol 5%, kombinasi gel ekstrak propolis 5% dan gel dexpanthenol 2,5%, serta kombinasi gel ekstrak propolis 10% dan dexpanthenol 5%.
3. Menganalisis perbedaan kadar IL-1 β dan kadar TGF- β antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini dapat dijadikan bukti ilmiah mengenai pengaruh dosis kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol dalam modulasi kadar IL-1 β dan TGF- β dan memberikan dasar pengembangan terapi berbahan alam untuk luka bakar

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat praktis berupa tersedianya alternatif terapi topikal yang lebih aman dan potensial untuk membantu mempercepat penyembuhan luka bakar derajat II. Hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan oleh tenaga kesehatan dalam pemilihan bahan perawatan luka, serta menjadi dasar pengembangan produk gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol yang dapat digunakan masyarakat secara lebih luas.

1.5 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

Peneliti	Judul	Metode	Hasil
Nasrullah., 2022 ²⁵	<i>Caffeic Acid Phenethyl Ester Loaded PEG-PLGA Nanoparticles Enhance Wound Healing in Diabetic Rats</i>	<i>In Vivo</i>	Nanopartikel CAPE terbukti mempercepat penutupan luka dengan menurunkan ekspresi TNF- α dan IL-6, sekaligus meningkatkan ekspresi TGF- β dan PDGF.
Manginstar <i>et al.</i> , 2025 ²⁶	<i>Dual anti-inflammatory and anti-microbial effects of stingless bee propolis on second-degree burns</i>	<i>In Vivo</i>	Propolis lebah tanpa sengat pada luka bakar derajat II menekan inflamasi melalui penurunan TNF- α dan peningkatan VEGF, dengan hasil penyembuhan lebih baik daripada 1% silver sulfadiazine serta memiliki efek antimikroba terhadap

Peneliti	Judul	Metode	Hasil
			<i>MRSA</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
Dekebo et al., 2024 ⁵	<i>Wound Healing, Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Activities, and Chemical Composition of Korean Propolis from Different Sources</i>	<i>In Vivo</i>	Ekstrak propolis topikal 5% dan 10% terbukti mempercepat proses penyembuhan luka pada tikus, dengan konsentrasi 10% memberikan hasil paling optimal yang sebanding dengan nitrofurazone, serta menunjukkan aktivitas antiinflamasi (penekanan mediator seperti IL-6 dan TNF- α) dan antimikroba.
Yildizhan et al., 2022 ¹⁹	<i>Comparison of topical sucralfate with dexpanthenol in rat wound model</i>	<i>In Vivo</i>	Aplikasi topikal 5% dexpanthenol mempercepat penyembuhan luka pada tikus Wistar melalui peningkatan neovaskularisasi, aktivasi fibroblas, reepitelisasi, dan kepadatan kolagen, dengan efektivitas sebanding sucralfate.
Kirgiz et al., 2024 ²⁷	<i>45S5 Bioactive Glass-Ointment Positively Effects on Wound Healing in Rats by Regulating</i>	<i>In Vivo</i>	Dexpanthenol memiliki efek setara dengan topikal BG. Dexpanthenol meningkatkan ekspresi gen TGF- β , VEGF, dan IL-6, sedangkan TNF- α tidak berubah → menunjukkan stimulasi faktor

Peneliti	Judul	Metode	Hasil
	<i>TNFα, Il-10, VEGF, and TGFβ</i>		pertumbuhan yang mendukung penyembuhan.

Tabel 1.1 menjelaskan berbagai penelitian yang telah dilakukan yang menegaskan peran propolis dan dexpanthenol dalam penyembuhan luka. Nasrullah (2022) melaporkan bahwa CAPE, salah satu komponen bioaktif propolis, efektif menekan mediator inflamasi sekaligus meningkatkan faktor pertumbuhan pada model luka diabetes. Temuan ini relevan dengan penelitian yang akan dilakukan karena menggarisbawahi kemampuan propolis yang mengandung senyawa bioaktif Chrysin, Galangin, Pinocembrin dan CAPE dalam mengatur keseimbangan inflamasi dan proliferasi, meskipun konteks penyakit yang digunakan berbeda dengan luka bakar.²⁵

Penelitian oleh Manginstar *et al.* (2025) lebih spesifik menilai efek ekstrak propolis yang berasal dari propolis lebah tanpa sengat pada luka bakar derajat II. Hasilnya menunjukkan bahwa propolis tidak hanya menekan inflamasi, tetapi juga mendukung angiogenesis serta menunjukkan efek antimikroba yang lebih baik dibandingkan silver sulfadiazine. Hal ini memberikan dasar kuat bahwa ekstrak propolis dapat menjadi alternatif terapi luka bakar, tetapi penelitian tersebut belum menyinggung kombinasi dengan agen regeneratif lain seperti dexpanthenol.²⁶ Penelitian ini akan menggunakan ekstrak propolis lebah bersengat *Apis mellifera* dari *Health and Happiness International* (HDI) karena jenis lebah ini diketahui menghasilkan propolis dengan kandungan flavonoid dan fenolik yang tinggi serta

aktivitas antiinflamasi yang lebih konsisten dibandingkan propolis dari lebah tanpa sengat. Produk HDI juga dipilih karena memiliki mutu terstandar, tersertifikasi, dan disertai *Certificate of Analysis* (COA) yang menjamin kemurnian 100% sehingga mengurangi variabilitas hasil penelitian.

Dekebo *et al.* (2024) berfokus pada variasi konsentrasi ekstrak propolis, dan menemukan bahwa dosis 10% paling optimal untuk mempercepat penyembuhan luka. Relevansi temuan ini terhadap penelitian yang dilakukan adalah sebagai acuan dalam menentukan dosis efektif ekstrak propolis, sekaligus menegaskan pentingnya mengeksplorasi kombinasi dosis dengan bahan lain untuk mendapatkan hasil sinergis.⁵ Dari sisi dexpanthenol, Yildizhan *et al.* (2022) memperlihatkan bahwa topikal dexpanthenol 5% mendukung fase proliferasi melalui peningkatan neovaskularisasi, reepitelisasi, dan deposisi kolagen. Hasil ini memperlihatkan bahwa dexpanthenol berperan dominan pada fase regenerasi jaringan, sehingga dapat melengkapi mekanisme propolis yang lebih menekankan pada kontrol inflamasi.¹⁹

Kirgiz *et al.* (2024) menambah pemahaman mekanistik terkait dexpanthenol. Dexpanthenol terbukti meningkatkan ekspresi faktor pertumbuhan seperti TGF- β dan VEGF yang mendukung proliferasi, namun efek antiinflamasinya relatif lemah. Peningkatan IL-8 yang diamati menunjukkan adanya respons inflamasi, namun efek inflamasi ini bersifat ringan dan tidak berlebihan, sementara pelepasan sitokin inflamasi lainnya seperti IL-6 dan IL-1 β tetap rendah, sehingga dexpanthenol memiliki kemampuan efektivitas antiinflamisnya relatif lemah. Hasil ini mendukung pemilihan TGF- β sebagai

biomarker penelitian ini karena menjadi penanda kunci peralihan fase inflamasi ke proliferasi.^{27,28}

Secara keseluruhan, penelitian terdahulu belum ada yang mengombinasikan propolis dan dexpanthenol dalam satu formulasi gel topikal maupun mengevaluasi efek sinergisnya terhadap regulasi IL-1 β dan TGF- β pada luka bakar derajat II. Oleh karena itu, penelitian ini dirancang untuk mengisi celah tersebut melalui formulasi gel kombinasi dan pengukuran kedua biomarker tersebut.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Interleukin-1 β* (IL-1 β)

2.1.1 Definisi

Interleukin-1 (IL-1) merupakan keluarga besar sitokin yang banyak diekspresikan di jaringan epidermis manusia dan berperan penting dalam imunopatologi kulit. IL-1 terdiri dari tiga subfamili utama, yaitu IL-1, IL-18, IL-36. Sitokin IL-1 umumnya diproduksi dalam bentuk prekursor yang perlu dimatangkan melalui pemotongan proteolitik.² IL-1 memiliki dua isoform utama, yaitu IL-1 α dan IL-1 β , yang diproduksi oleh keratinosit maupun sel imun dan berperan penting pada fase inflamasi akut penyembuhan luka dengan merekrut serta mengaktifkan monosit dan neutrofil untuk eliminasi patogen, pembersihan debris, dan inisiasi perbaikan jaringan. Keduanya memiliki fungsi serupa, tetapi berbeda dalam hal pola ekspresi dan regulasinya.²⁹

2.1.2 Sintesis dan Aktivasi IL-1 β

Sintesis dan aktivasi IL-1 β dimediasi oleh inflammasom NLRP3 melalui dua jalur: kanonik dan non-kanonik.

a. Jalur Kanonik

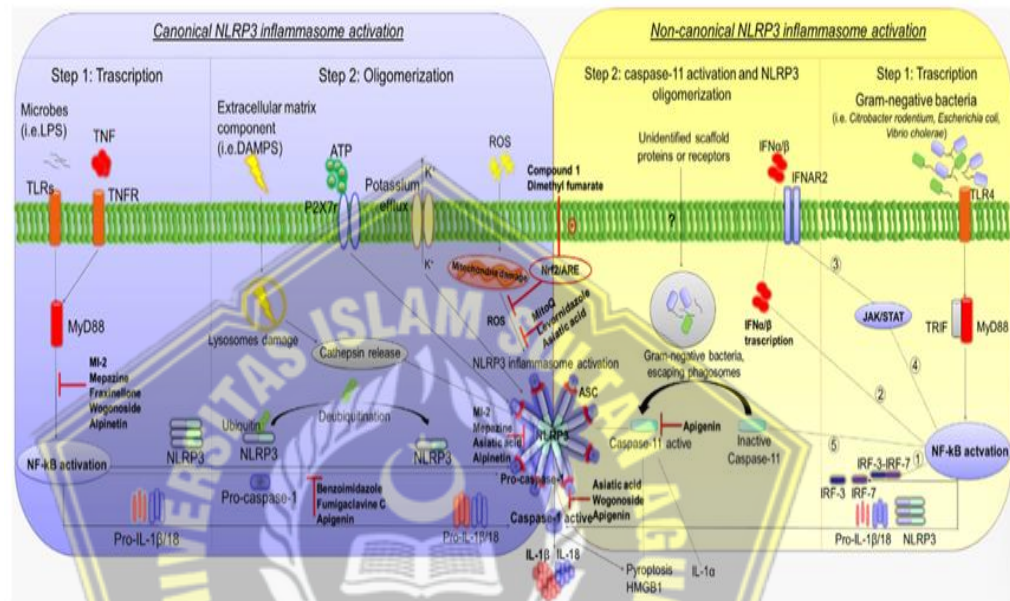
Pada jalur kanonik, aktivasi inflammasom NLRP3 berlangsung melalui dua tahap independen, yaitu transkripsi dan oligomerisasi. Pada tahap transkripsi (disebut juga sinyal *priming*), makrofag mengenali *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) atau *damage-associated*

molecular patterns (DAMPs) melalui reseptor TLR-MyD88 atau reseptor sitokin seperti TNFR. Hal ini memicu aktivasi persinyalan jalur NF- κ B yang menstimulasi sintesis prekursor pro-IL-1 β .²⁸⁻³⁰ Tahap kedua yaitu oligomerisasi kompleks protein NLRP3, dipicu oleh berbagai rangsangan yang berkaitan dengan infeksi seperti peningkatan ATP, perubahan pH dan osmolaritas ekstraselular, serta peningkatan stress oksidatif. Oligomerisasi inflammasom (disebut juga sinyal aktivasi) melibatkan protein NLRP3, adaptor ASC, dan pro-caspase-1, menghasilkan caspase-1 aktif. Caspase-1 aktif kemudian memotong pro-IL-1 β menjadi bentuk sitokin matang, sekaligus memotong gasdermin D (GSDMD) yang membentuk pori membran plasma. Pori ini memungkinkan pelepasan sitokin sekaligus memicu kematian sel imun (pyroptosis) melalui hilangnya integritas membran sel.³⁰

b. Jalur Non-Kanonik

Pada jalur non-kanonik, aktivasi inflammasom NLRP3 bergantung pada caspase-11 seperti pada gambar 2.1. Pada infeksi bakteri Gram-negatif, aktivasi TLR4-MyD88 dan TRIF memicu translokasi NF- κ B yang meningkatkan transkripsi *IL-1 β* , *IL-18*, dan *NLRP3*, serta mengaktifkan IRF3/7 untuk menstimulasi ekspresi IFN- α/β . Sinyal interferon ini kemudian mengaktifkan jalur JAK/STAT yang mendorong transkripsi *caspase-11*. Caspase-11 yang terbentuk mampu mengenali LPS sitosolik secara langsung, sehingga menginisiasi pemotongan GSDMD, pyroptosis, serta pelepasan HMGB1 dan IL-1 α . Selain itu, caspase-11 juga

memperkuat aktivasi inflammasom NLRP3 dengan meningkatkan pemrosesan IL-1 β dan IL-18 melalui caspase-1, meskipun kedua mekanisme ini dapat berlangsung secara independen. Proses ini dapat dilihat lebih lanjut pada gambar 2.1³¹

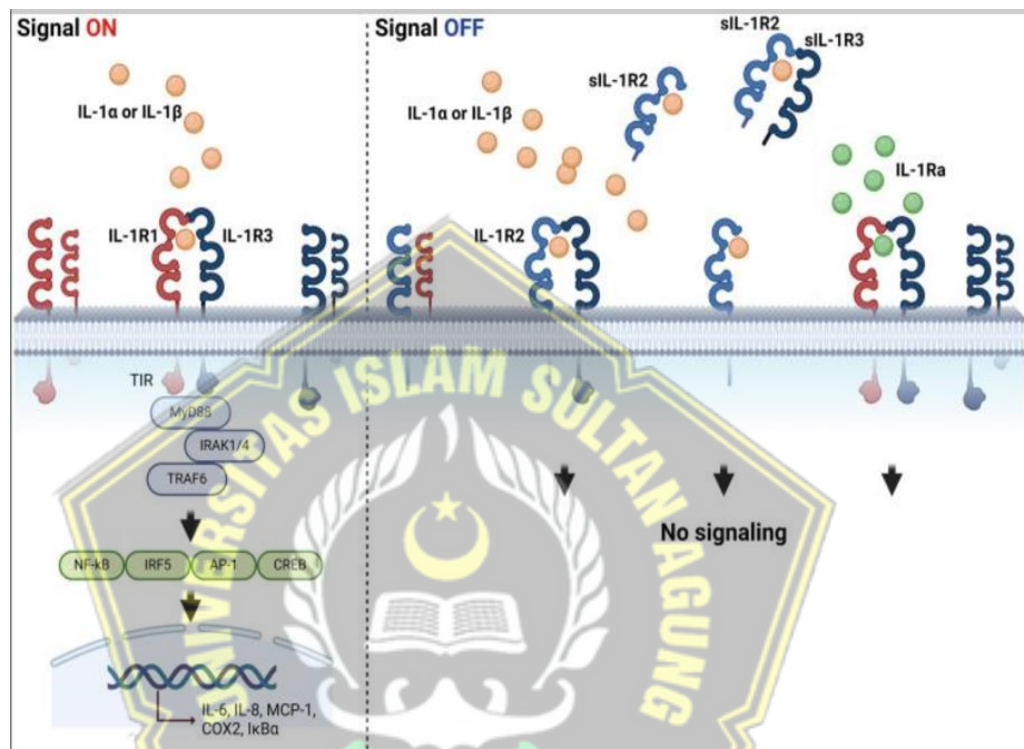


Gambar 2.1 Mekanisme aktivasi inflammasom NLRP3 jalur kanonik dan non-kanonik³¹

2.1.3 Jalur Persinyalan IL-1 β

IL-1 α dan IL-1 β mengatur inflamasi lokal maupun sistemik melalui pengikatan dengan reseptor IL-1R1/IL-1R3. IL-1R1 berperan sebagai reseptor utama dalam respon imun yang dimediasi oleh IL-1. Ikatan IL-1 dengan IL-1R1 memicu perubahan konformasi yang memfasilitasi perekrutan IL-1R3, membentuk kompleks sinyal trimerik. Domain TIR pada kompleks trimerik ini berikatan dengan adaptor MyD88, memicu perekrutan *IL-1R-activated protein kinase 4* (IRAK4). IRAK4 selanjutnya mengalami autofosforilasi, menginisiasi fosforilasi IRAK1 dan IRAK2. Hal ini memicu oligomerisasi *TNF-associated factor 6* (TRAF6). Aktivasi persinyalan seperti pada gambar 2.2 ini

menstimulasi berbagai faktor transkripsi termasuk NF- κ B, IRF5, AP-1, dan CREB, yang pada akhirnya menginduksi transkripsi sejumlah gen respons imun seperti IkB α , IL-6, IL-8, MCP-1, dan COX-2.³²



Gambar 2.2 Mekanisme aktivasi persinyalan IL-1 β

2.1.4 Peran IL-1 β dalam Penyembuhan Luka Bakar

Pada luka bakar, jaringan yang rusak melepaskan *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) yang dikenali TL, sehingga mengaktifasi inflammasom NLRP3.³³ Pembentukan NLRP3 kemudian memicu maturasi dan sekresi IL-1 β .³⁰ Sekresi IL-1 β menyebabkan perekrutan neutrofil untuk membersihkan jaringan rusak dan mencegah infeksi. Selain itu, IL-1 β menstimulasi proliferasi fibroblas dan keratinosit, produksi dan degradasi matriks ekstraselular, serta mendorong sekresi berbagai faktor pertumbuhan

seperti TGF- α , KGF, GM-CSF, PDGF, dan VEGF yang mendukung angiogenesis serta regenerasi jaringan.²

Kadar IL-1 β pada luka bakar umumnya meningkat segera setelah cedera dan mencapai puncak dalam 24–48 jam pertama, kemudian tetap tinggi hingga hari ke-10-14. Akan tetapi, ekspresi IL-1 β dapat menciptakan mekanisme umpan balik positif dengan mempertahankan inflammasom pada makrofag, sehingga menyebabkan inflamasi kronis, menginduksi penuaan jaringan fibroblas, dan meningkatkan aktivitas *matrix metalloproteinase* (MMP) yang merusak matriks serta faktor pertumbuhan. Kondisi ini menyebabkan terhambatnya transisi ke fase proliferasi sehingga luka menjadi kronis dan sulit sembuh. Studi pada model hewan menunjukkan penghambatan inflammasom atau persinyalan IL-1 β mampu menggeser makrofag ke arah antiinflamasi (M2), menurunkan kadar sitokin proinflamasi, kemokin, dan MMP, serta meningkatkan sitokin antiinflamasi, inhibitor MMP, dan faktor pertumbuhan yang mendukung penyembuhan luka. Selain itu, pemberian IL-1 *receptor antagonist* (IL-1RA) terbukti mengurangi nyeri pascaoperasi dengan menekan respon inflamasi. Temuan ini menegaskan bahwa IL-1 β berperan besar dalam inflamasi persisten dan penyembuhan luka yang tertunda. Oleh karena itu, pemantauan IL-1 β dapat memberikan informasi mengenai dinamika inflamasi dan efektivitas terapi pada luka bakar.²

2.1.5 Faktor yang Mempengaruhi Kadar IL-1 β

Sintesis dan aktivasi IL-1 β berkaitan erat dengan keberadaan inflammasom NLRP3. Beberapa faktor yang mempengaruhi kompleks NLRP3:

a. PAMP dan DAMP

Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs), seperti lipopolisakarida (LPS) bakteri Gram-negatif, *lipoteichoic acid* (LTA), dan asam nukleat mikroba, serta *Damage-Associated Molecular Patterns* (DAMPs), seperti ATP, kristal asam urat, fragmen matriks ekstraseluler (hyaluronan, biglycan, decorin), HMGB1, *heat shock protein* (HSP), serta DNA mitokondria teroksidasi, berperan sebagai sinyal bahaya.^{34,35} Pada jalur kanonikal, PAMP dan DAMP dikenali oleh *pattern recognition receptors* (PRRs) sebagai sinyal *priming* yang mengaktivasi jalur TLR–NF- κ B untuk meningkatkan transkripsi pro-IL-1 β . Pada jalur non-kanonikal, DAMP tertentu seperti LPS dapat langsung mengaktivasi inflammasom NLRP3, sehingga pro-IL-1 β diproses menjadi IL-1 β aktif.^{36,37}

b. Peran Ion

Aliran ion berperan penting dalam aktivasi inflammasom NLRP3 yang menentukan pelepasan IL-1 β . Efluks K⁺ merupakan sinyal utama aktivasi NLRP3, sedangkan efluks Cl⁻ turut memperkuat aktivasi melalui kanal intraseluler yang dipicu stres oksidatif. Sementara itu, peningkatan kadar Ca²⁺ intraseluler, baik melalui influx dari luar sel maupun pelepasan dari retikulum endoplasma, berfungsi sebagai

modulator yang mendukung aktivasi inflammasom. Peran Na^+ lebih terbatas karena influx Na^+ tidak cukup untuk mengaktifkan inflammasom secara langsung. Secara keseluruhan, kombinasi penurunan K^+ dan Cl^- intraseluler bersama peningkatan Ca^{2+} intraseluler menciptakan kondisi ionik yang mendukung aktivasi inflammasom NLRP3 dan regulasi kadar IL-1 β .³⁸

c. *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan Disfungsi Mitokondria

Produksi ROS merupakan sinyal penting dalam aktivasi inflammasom NLRP3. Dalam kondisi fisiologis, kadar ROS rendah berperan dalam proliferasi dan apoptosis sel. Namun, pada keadaan patologis, kerusakan mitokondria meningkatkan produksi ROS yang kemudian mengaktifkan inflammasom NLRP3. Penelitian terdahulu melaporkan akumulasi mitokondria rusak memicu peningkatan ROS dan aktivasi inflammasome. Selain itu, ROS mitokondria dapat memediasi pelepasan DNA mitokondria teroksidasi ke sitoplasma, yang menjadi molekul kunci aktivasi NLRP3. Meski demikian, beberapa penelitian menunjukkan bahwa aktivasi inflammasom juga dapat terjadi secara independen dari ROS, misalnya oleh antibiotik linezolid, bacitracin, protein β -amiloid serum, maupun infeksi virus.³⁸

d. Kerusakan Lisosom

Kerusakan lisosom merupakan salah satu mekanisme aktivasi inflammasom NLRP3. Pertama kali ditemukan bahwa protein β -amiloid dapat memicu pelarutan lisosom sehingga mengaktifkan

inflammasom. Selanjutnya, berbagai partikel seperti kristal asam urat dan asbestos terbukti merusak lisosom setelah difagositosis, menyebabkan kebocoran isi lisosom ke sitoplasma, perubahan aliran ion, serta efluks K^+ yang berkontribusi pada aktivasi inflammasom. Enzim lisosom seperti cathepsin B semula dianggap kunci, karena inhibisinya menekan aktivasi inflammasom, namun penelitian lain menunjukkan bahwa hilangnya cathepsin B maupun cathepsin lain (X, L, S) tidak sepenuhnya menghambat respon, sehingga mekanisme pastinya masih diperdebatkan.³⁸

2.1.6 Metode Pemeriksaan IL-1 β

IL-1 β dapat dikuantifikasi melalui 3 metode: qPCR, *Western blotting*, dan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). qPCR digunakan untuk menganalisis ekspresi mRNA IL-1 β , sedangkan *Western blotting* digunakan untuk mengukur kadar protein IL-1 β . *Western blotting* memiliki kekurangan berupa data yang dihasilkan bersifat kualitatif dan kurang sensitif untuk mendeteksi konsentrasi rendah. ELISA merupakan metode deteksi dan kuantifikasi IL-1 β yang dinilai lebih akurat, memungkinkan deteksi dalam kultur sel, jaringan, maupun plasma dengan sensitivitas hingga 12,5 pg/mL.³⁹

Metode ELISA pada sampel jaringan memiliki keterbatasan karena proses preparasi yang kompleks, potensi degradasi antigen, dan interferensi matriks jaringan yang dapat menurunkan akurasi hasil. Selain itu, metode ini tidak menunjukkan lokasi ekspresi protein, sehingga sering perlu dikombinasikan dengan imunohistokimia.⁴⁰

2.2 TGF- β

2.2.1 Definisi

Transforming Growth Factor- β (TGF- β) adalah sitokin multifungsi yang diekspresikan hampir di semua jaringan dan jenis sel. TGF- β paling banyak dihasilkan oleh platelet. TGF- β berperan dalam regulasi kelangsungan hidup, metabolisme, pertumbuhan, proliferasi, diferensiasi, adhesi, migrasi, dan kematian sel.⁴¹ Pada mamalia, keluarga faktor pertumbuhan TGF- β terbagi dalam 2 subfamili: subfamili TGF- β /Nodal dan subfamili *Bone Morphogenetic Protein* (BMP). Subfamili TGF- β /Nodal mencakup TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, Nodal, 4 Activin, dan 5 *Growth and Differentiation Factor* (GDF), serta ligan Inhibin. Subfamili BMP terdiri atas 11 BMP, 4 GDF, dan hormon Anti-Muellerian (AMH). TGF- β 1, TGF- β 2, dan TGF- β 3 sangat mirip struktur dan aktivitas biologisnya secara *in vitro*.^{3,42}

2.2.2 Biosintesis TGF- β

Tiga isoform TGF- β (TGF- β 1, TGF- β 2, dan TGF- β 3) disintesis sebagai prekursor dimer yang terhubung oleh ikatan disulfida dalam bentuk pre-pro-TGF- β . Prekursor TGF- β 1 terdiri atas 390 asam amino.^{41,42} Prekursor ini diproses oleh endoprotease furin di aparatus Golgi, yang membelahnya menjadi dua bagian: segmen N-terminal *latency-associated peptide* (LAP) dan segmen C-terminal yang membentuk sitokin TGF- β matang. Meskipun sudah terpotong, TGF- β matang tetap terikat secara non-kovalen dengan LAP sehingga situs pengikat reseptornya tertutup. Kompleks ini disebut *small latent TGF- β complex* (SLC). SLC biasanya berikatan dengan *latent TGF- β binding*

proteins (LTBP-1, 3, atau 4), membentuk *large latent TGF- β complex* (LLC) yang memungkinkan TGF- β laten ditambahkan pada matriks ekstraseluler. Selain itu, SLC juga berikatan dengan protein transmembran LRRC32/GARP dan LRRC33 untuk menahan kompleks tersebut di permukaan sel. Dengan cara ini, TGF- β disekresikan dalam bentuk laten dan hanya dapat diaktifkan oleh mekanisme tertentu.³

TGF- β yang berada dalam bentuk laten dapat diaktifkan oleh beberapa faktor, seperti integrin, asam, basa, ROS, thrombospondin-1 (TSP-1), dan protease. Aktivasi TGF- β oleh integrin merupakan mekanisme yang paling banyak diteliti dan paling penting. Mekanisme aktivasi TGF- β oleh integrin terjadi melalui ikatan integrin pada sekuens RGD di LAP TGF- β 1 dan TGF- β 3, sedangkan TGF- β 2 tidak dapat diaktivasi karena tidak memiliki sekuens tersebut. Integrin α V β 6 dan α V β 8 merupakan aktivator TGF- β utama. Integrin α V β 6, yang ditemukan pada sel epitel, mengaktifkan TGF- β dengan bantuan kontraksi sel yang menghasilkan deformasi pada kompleks laten. Sebaliknya, integrin α V β 8 yang diekspresikan luas pada berbagai jenis sel tidak terhubung ke sitoskeleton dan mengaktifkan TGF- β terutama melalui aktivitas proteolitik MT1-MMP atau interaksi dengan molekul membran (misalnya GARP, LRRC33), sehingga dapat mengekspos domain aktif TGF- β tanpa melepaskan sitokin terlarut.^{41,42}

2.2.3 Persinyalan TGF- β

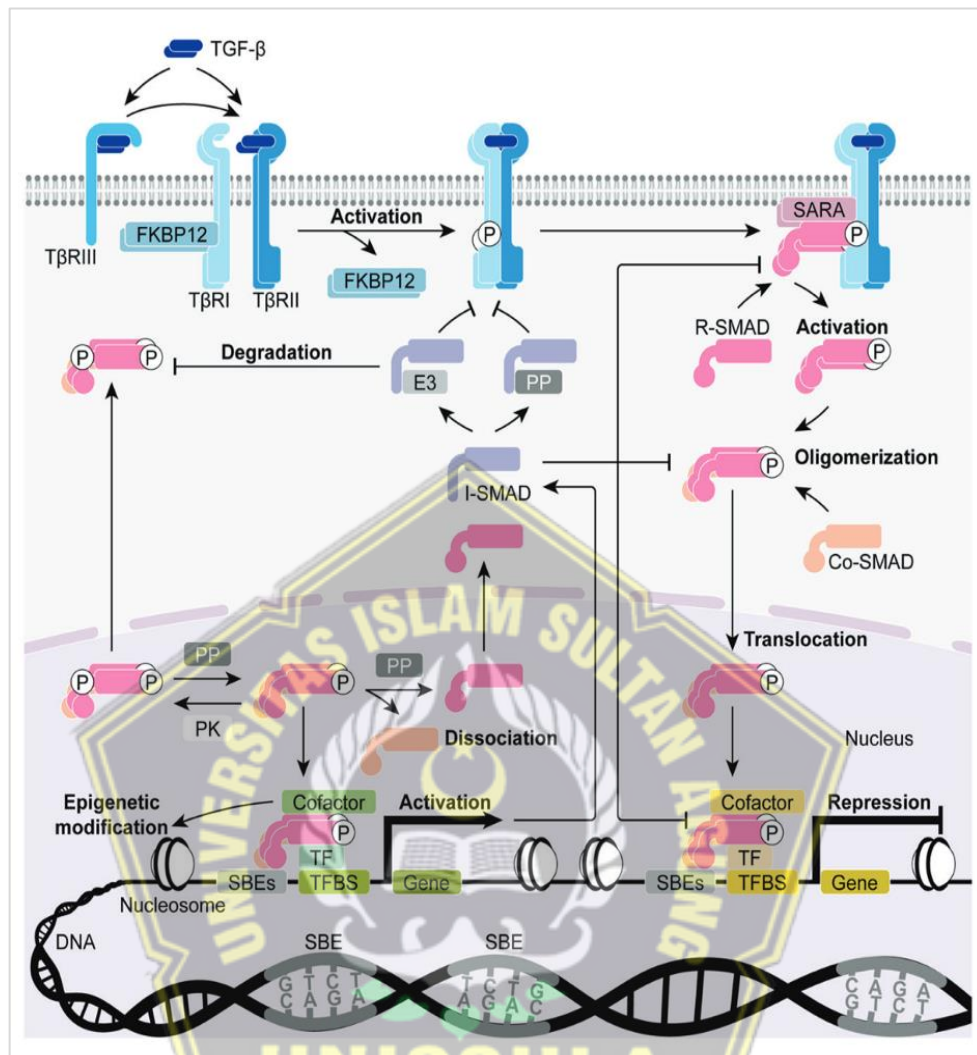
Transduksi sinyal TGF- β dimediasi oleh reseptor T β RI (disebut juga ALK5) dan tipe T β RII yang merupakan reseptor enzimatik dengan aktivitas ganda serin/treonin kinase dan tirosin kinase. TGF- β 1 dan TGF- β 3 memiliki afinitas tinggi terhadap T β RII sebelum berikatan dengan T β RI, sedangkan TGF- β 2 memiliki ikatan yang lemah pada keduanya. Reseptor T β RIII (β -glycan) tidak dapat langsung mentransduksi sinyal, tetapi berfungsi sebagai ko-reseptor dengan afinitas tinggi terhadap TGF- β 2, sehingga memfasilitasi interaksi ligan dengan T β RI/T β RII. Kompleks reseptor-ligan ini kemudian menginisiasi aktivasi jalur kanonik maupun non-kanonik TGF- β .⁴¹

2.2.3.1 Persinyalan Kanonik (*SMAD signaling*)

Jalur kanonik TGF- β dikendalikan oleh faktor transkripsi SMAD. Ikatan ligan dengan T β RII mendorong terbentuknya kompleks heteromerik TGF- β -T β RI-T β RII, di mana T β RII mengaktifkan T β RI melalui fosforilasi domain GS menyebabkan pelepasan inhibitor FKBP12. Aktivasi ini memungkinkan perekrutan dan fosforilasi SMAD2/3 (R-SMAD) yang sebelumnya difasilitasi adaptor SARA. R-SMAD terfosforilasi kemudian beroligomerisasi, umumnya dengan SMAD4 (co-SMAD), untuk membentuk kompleks stabil yang berpindah ke inti sel untuk berperan sebagai faktor transkripsi. Kompleks SMAD mengatur ekspresi gen target dengan berikatan pada elemen pengikat SMAD (SBE) dan bekerja sama dengan faktor transkripsi serta ko-faktor lain. Mekanisme ini juga menginduksi ekspresi I-SMAD yang berfungsi

sebagai umpan balik negatif, sementara berbagai enzim seperti kinase, fosfatase, dan ligase ubiquitin turut memodulasi sinyal kanonik TGF- β melalui modifikasi pascatranslasi SMAD.⁴¹

SMAD6 dan SMAD7 yang diinduksi oleh TGF- β berfungsi sebagai penghambat jalur SMAD dengan berkompetisi pada T β RI. SMAD7 memiliki kapasitas lebih kuat untuk menekan sinyal TGF- β dengan merekrut E3 ligase seperti SMURFs dan NEDD4L, yang memediasi degradasi proteasomal maupun lisosomal dari komponen jalur sinyal. SMAD7 juga dapat merekrut PP1 untuk mendefosforilasi T β RI serta mengganggu pembentukan kompleks transkripsi SMAD-DNA, sehingga menciptakan mekanisme umpan balik negatif. Aktivitas transkripsi SMAD juga dipengaruhi ko-faktor, di mana koaktivator seperti p300/CBP meningkatkan aksesibilitas DNA, sedangkan HDAC dan faktor lain seperti TGIF atau SKI bertindak sebagai korepresor yang menekan ekspresi gen. Selain itu, fungsi SMAD dikendalikan oleh modifikasi pascatranslasi berupa fosforilasi oleh berbagai kinase, defosforilasi oleh fosfatase, serta ubiquitinasi oleh E3 ligase yang dapat mengarahkan degradasi atau memodulasi aktivitasnya. Pada gambar 2.3, dapat dilihat secara keseluruhan mekanisme ini memberikan kontrol berlapis terhadap regulasi sinyal TGF- β .⁴¹

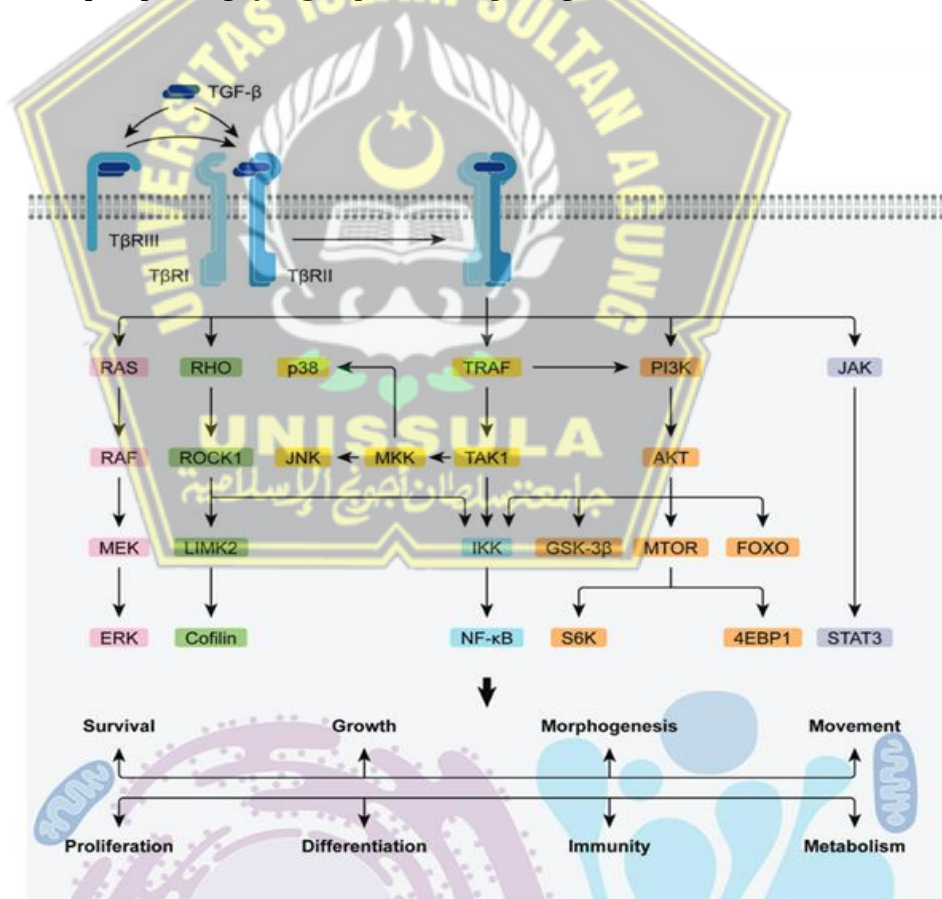


Gambar 2.3 Mekanisme Persinyalan TGF- β Jalur Kanonik

2.2.3.2 Persinyalan Non-Kanonik TGF- β

Selain jalur SMAD, TGF- β juga mengaktifkan jalur non-kanonik seperti pada gambar 2.4. Aktivasi ERK terjadi melalui aktivitas tirosin kinase T β RI yang memicu fosforilasi SHCA dan pembentukan kompleks dengan GRB2-SOS, menginisiasi kaskade RAS-RAF-MEK-ERK. Jalur Rho GTPase (RHO, RAC1, CDC42) mengatur sitoskeleton aktin melalui aktivasi ROCK1 dan LIMK2, serta berperan dalam transkripsi, siklus sel,

dan proses patologis seperti fibrosis. Aktivasi TAK1 melalui TRAF4/6 memicu fosforilasi MKK3/6 dan MKK4, sehingga mengaktifkan p38 dan JNK yang terlibat dalam respons stres dan perkembangan. Jalur ini juga dapat mengaktifkan NF- κ B melalui degradasi I κ B. Selain itu, TGF- β dapat mengaktifkan PI3K/AKT, yang berperan dalam metabolisme, proliferasi, dan kelangsungan hidup sel, serta jalur JAK/STAT yang menginduksi fosforilasi STAT3 untuk memediasi efek fibrogenik. Jalur-jalur non-kanonik ini memperluas spektrum pengaruh TGF- β dalam fisiologi maupun patologi yang dapat dilihat pada gambar 2.4.⁴¹



Gambar 2.4 Mekanisme Persinyalan TGF- β Jalur Non-Kanonik

2.2.4 Peran TGF- β dalam Penyembuhan Luka Bakar

TGF- β berperan penting dalam setiap fase penyembuhan luka. Pada fase hemostasis, trombosit melepaskan TGF- β secara cepat dalam jumlah besar untuk merekrut sel inflamasi dan fibroblas, yang kemudian turut mensekresi TGF- β sehingga konsentrasinya semakin meningkat di area luka. Selanjutnya, TGF- β diekspresikan oleh keratinosit di tepi luka, berperan dalam mengatur proliferasi basal keratinosit, serta mendorong migrasi epitel melalui regulasi integrin dan aktivasi PI3K. Pada fase proliferasi dan remodeling, TGF- β menginduksi re-epitelisasi, angiogenesis, serta aktivasi fibroblas. Mekanismenya meliputi stimulasi proliferasi dan migrasi sel endotel serta peningkatan ekspresi VEGF, sekaligus mendorong fibroblas untuk menghasilkan kolagen, fibronectin, MMPs, TIMPs, dan PAI-1 yang berperan dalam deposisi dan remodeling matriks ekstraseluler. Selain itu, TGF- β dapat memicu diferensiasi fibroblas menjadi miofibroblas dan mengaktifkan jalur RHO yang berkontribusi terhadap kontraksi luka.⁴³

Namun, disregulasi sinyal TGF- β dapat menimbulkan gangguan penyembuhan luka. Ekspresi TGF- β yang rendah berhubungan dengan luka kronis yang sulit sembuh, sedangkan ekspresi yang berlebihan dapat menyebabkan pembentukan jaringan parut hipertrofik dan keloid melalui peningkatan deposisi ECM, resistensi terhadap apoptosis, proliferasi berlebihan, serta induksi CTGF dan VEGF.^{44,45} Penelitian oleh Khan *et al.* (2021) menunjukkan terapi *photobiomodulation* (PBM) mempercepat penyembuhan luka bakar pada tikus melalui aktivasi TGF- β laten, yang

ditandai dengan peningkatan fosfo-Smad2, penurunan gen inflamasi, serta perbaikan fungsi epitel, fibroblas, dan makrofag. Efek tersebut hilang pada tikus knock-in TGF- β 1/ β 3, menegaskan bahwa TGF- β berperan penting dalam penyembuhan luka bakar.⁴³

2.2.5 Faktor yang Mempengaruhi Kadar TGF- β

Beberapa faktor yang mempengaruhi aktivasi TGF- β :^{42,46}

a. Integrin

Integrin merupakan reseptor transmembrane berbentuk heterodimer (α dan β subunit) yang menghubungkan sel dengan matriks ekstraseluler (ECM) serta mentransduksi sinyal ke dalam sel. Integrin memiliki domain pengikatan tripeptide RGD yang berinteraksi dengan LAP untuk melepaskan TGF- β dari bentuk latennya, atau memfasilitasi rekrutmen protease (misalnya MMPs) yang mendegradasi LAP. Peran integrin ini sangat penting, terbukti bahwa mutasi pada situs pengikatan RGD menyebabkan fenotipe menyerupai defisiensi TGF- β , meskipun produksi TGF- β laten tetap normal.

b. Thrombospondin-1 (TSP-1)

TSP-1 adalah glikoprotein matriks yang disekresikan terutama oleh platelet, makrofag, dan sel stroma. Pada kondisi normal, kadarnya rendah, tetapi meningkat tajam saat cedera jaringan, inflamasi, atau aktivasi platelet. TSP-1 berinteraksi dengan LAP dan TGF- β , membentuk kompleks trimolekul yang mengubah struktur SLC, lalu melepaskan TGF-

β aktif. Bukti pada tikus *knockout* TSP-1 menunjukkan bahwa ketiadaan TSP-1 menimbulkan fenotipe mirip defisiensi TGF- β .

c. Keasaman (pH)

Perubahan pH ekstrem, baik sangat asam (pH 1,5–3) maupun sangat basa (pH 11–12), dapat memutus ikatan antara LAP dan TGF- β laten sehingga melepaskan TGF- β aktif. Kondisi ini membuktikan bahwa mikro-lingkungan asam atau basa berperan langsung dalam aktivasi TGF- β .

d. Suhu

Pemanasan pada suhu tinggi (65–100 °C) mampu menginduksi aktivasi TGF- β laten baik rekombinan maupun alami. Energi termal ini menyebabkan perubahan struktur protein yang memutus ikatan kompleks laten TGF- β .

e. Agen *Chaotropic*

Agen *chaotropic* seperti urea dapat mengubah struktur kompleks LAP–TGF- β sehingga mempercepat pelepasan bentuk aktif. Mekanisme ini menunjukkan bahwa agen kimia tertentu dapat memodifikasi interaksi protein-protein pada TGF- β laten.

f. ROS

ROS, khususnya radikal hidroksil, dapat merusak ikatan LAP dengan TGF- β , sehingga mengaktifkan TGF- β . Hal dibuktikan pada studi mengenai paparan radiasi dosis tinggi atau oksidasi katalis logam dapat memicu aktivasi TGF- β rekombinan manusia.

g. Protease

Aktivasi TGF- β laten dipengaruhi oleh enzim seperti plasmin dan MMP. Plasmin memotong LTBP dari ECM dan mempercepat degradasi LAP, sehingga melepaskan TGF- β aktif. Selain itu, MMP-2 dan MMP-9 juga berperan dalam remodeling ECM sekaligus mengaktivasi TGF- β .

2.2.6 Metode Pemeriksaan TGF- β

Pengukuran TGF- β dapat dilakukan dengan berbagai metode yang dapat menilai bentuk aktif maupun totalnya. Beberapa metode pengukuran TGF- β yaitu *minik lung epithelial cell (MLEC) luciferase assay* yang mendeteksi aktivitas TGF- β melalui peningkatan ekspresi luciferase, imunohistokimia untuk mendeteksi TGF- β aktif atau Smad2/3 sebagai penanda aktivasi jalur sinyal, serta penggunaan tikus transgenik GFP dengan promoter responsif TGF- β untuk visualisasi *in vivo*. Selain itu, metode yang paling praktis dan banyak digunakan adalah ELISA karena sensitif, mudah direproduksi, serta mampu mendeteksi TGF- β pada berbagai sampel termasuk serum, plasma, maupun medium kultur. Meski demikian, kelemahan ELISA adalah tidak dapat memastikan aktivitas biologis TGF- β yang terdeteksi, sehingga hasilnya perlu dipadukan dengan metode lain untuk memahami aspek fungsional sitokin ini.⁴⁷

2.3 Propolis

2.3.1 Definisi

Propolis adalah produk alami mirip lem yang dihasilkan lebah madu dari campuran resin tumbuhan, minyak esensial, lilin lebah, dan serbuk sari. Propolis dikumpulkan lebah dari kuncup bunga dan daun, lalu bercampur

dengan air liur lebah sebelum disimpan di sarang. Saat ini, propolis digunakan sebagai zat aktif dalam sediaan farmasi karena kandungan senyawa organiknya seperti polifenol, terpen, ester, asam amino, vitamin, mineral, dan gula.⁴⁶

2.3.2 Kandungan Kimia dan Aktivitas Biologi

Secara umum, propolis mengandung resin, minyak esensial, *beeswax*, dan polen. Senyawa organik yang teridentifikasi di propolis yaitu polifenol, terpen, ester, asam amino, vitamin, mineral, dan gula. Kandungan bioaktif propolis bergantung pada asal dan faktor geografis. Propolis yang paling umum ditemukan di Eropa, Asia, dan Amerika Utara adalah propolis poplar. Propolis poplar banyak mengandung golongan polifenol flavones, flavanone, asam fenolat, serta esternya, termasuk chrysin, galangin, pinocembrin, dan caffeic acid phenethyl ester (CAPE).⁴⁸

a. Golongan Polifenol

Secara umum, senyawa golongan polifenol bekerja sebagai antioksidan dengan menangkap radikal bebas. Polifenol membentuk kompleks khelat dengan logam (misalnya seng), meningkatkan aktivitas antioksidan. Polifenol juga menekan enzim penghasil radikal (NADPH oksidase, xantin oksidase) serta mengaktifkan enzim antioksidan (SOD, katalase) melalui jalur Keap1/Nrf2/ARE. Polifenol memiliki aktivitas antiinflamasi melalui mekanisme penghambatan jalur persinyalan NF- κ B, COX-2, MAPK, serta menurunkan produksi sitokin proinflamasi (TNF- α , IL-1 β , IL-6). Polifenol berperan dalam menghambat pembentukan biofilm dan sinergis dengan antibiotik.⁴⁸

b. Chrysin

Chrysin dikenal dengan efek neuroprotektif, nefroprotektif, dan kardioprotektif. Chrysin bekerja dengan menekan NF- κ B, COX-2, dan menurunkan TNF- α serta IL-1 β , sehingga mengurangi inflamasi. Aktivitas antikankernya meliputi penghambatan angiogenesis, penekanan proliferasi sel, induksi apoptosis, serta modulasi jalur Notch1 dan PI3K/Akt. Chrysin juga dilaporkan menghambat metastasis sel kanker melalui regulasi MMP-10. Chrysin dalam penyembuhan luka berperan sebagai senyawa antiinflamasi, bekerja dengan cara menghambat jalur persinyalan NF- κ B, menurunkan ekspresi IL-6, IL-1 β , TNF- α dan produksi NO berlebih, serta menghambat COX-2 dan PGE-2.^{48,49}

c. Galangin

Galangin menekan inflamasi lewat jalur NF- κ B dan PI3K/Akt, serta menghambat proliferasi sel kanker dengan menginduksi apoptosis melalui jalur mitokondria (caspase-8/Bid/Bax). Galangin juga terbukti efektif melawan bakteri resisten (MRSA, Enterococcus, Pseudomonas), dengan cara merusak integritas membran sitoplasma dan mengganggu aktivitas enzim hidrolase dinding sel. Flavonol galangin menekan inflamasi dengan menghambat jalur persinyalan NF- κ B dan PI3K/Akt, serta mencegah pembentukan jaringan parut dengan menurunkan ekspresi TGF- β pada fase penyembuhan luka.^{48,50} Galangin juga memiliki efek anti-fibrotik dengan menekan aktivasi TGF- β yang berlebihan. Mekanisme ini mencegah diferensiasi fibroblas menjadi miofibroblas dan menurunkan deposisi

kolagen berlebih, sehingga menghambat terbentuknya jaringan parut dan fibrosis patologis. Dengan demikian, galangin berperan menjaga keseimbangan antara penyembuhan luka dan pencegahan pembentukan jaringan fibrotik.⁵⁰

d. Pinocembrin

Pinocembrin berfungsi sebagai antioksidan dan neuroprotektif, meningkatkan kadar SOD dan glutathione, serta menurunkan ROS, MDA, NO, dan enzim pro-oksidatif lain. Pinocembrin menekan jalur NF- κ B, PI3K/Akt, ERK1/2, dan ROCK, serta melindungi mitokondria dari disfungsi akibat kelebihan Ca^{2+} . Dalam konteks penyembuhan luka, pinocembrin menstimulasi proliferasi sel dengan meningkatkan fosforilasi kinase ERK1/2 dan Akt sehingga mengaktifkan kaskade persinyalan MAPK dan PI3K/Akt.^{48,51}

e. CAPE

Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE), merupakan senyawa penting dengan aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antikanker, antimikroba, dan penyembuhan luka. CAPE menekan NF- κ B, PI3K/Akt, dan MAPK; meningkatkan Nrf2/HO-1; serta memodulasi sitokin (TNF- α , IL-1 β , IL-6). Pada penyembuhan luka, CAPE bersifat proinflamasi di fase awal (meningkatkan migrasi makrofag dan mediator inflamasi), namun efeknya berbalik menjadi antiinflamasi dan antioksidan di fase lanjut, sehingga mempercepat transisi ke fase proliferasi dan remodeling.⁴⁸ Selain itu, CAPE juga berperan dalam mengatur ekspresi TGF- β pada fase proliferasi,

sehingga dapat mengendalikan aktivasi fibroblas dan deposisi matriks ekstraseluler. Mekanisme ini mendukung perbaikan jaringan sekaligus mencegah pembentukan fibrosis berlebih.²⁵

2.3.3 Peran Propolis dalam Penyembuhan Luka Bakar

Propolis mempercepat penyembuhan luka melalui aktivitas antimikroba, antioksidan, dan antiinflamasi yang mendukung semua tahap penyembuhan, menyeimbangkan respon imun, serta meningkatkan proliferasi keratinosit, sintesis kolagen tipe I, dan regenerasi epitel. Efektivitasnya terbukti pada berbagai jenis luka, termasuk luka bakar, luka diabetes, luka bedah, dan luka infeksi, dengan hasil sering kali lebih baik dibanding terapi standar seperti silver sulfadiazine. Selain itu, propolis jarang menimbulkan reaksi alergi dan memiliki toksisitas rendah.⁵²

Penelitian terdahulu telah mengemukakan efek propolis dalam penyembuhan luka bakar. Studi oleh El-Kersh *et al.* (2024) menunjukkan ekstrak propolis dengan kandungan utama berupa pinocembrin, chrysin, dan galangin, mampu mempercepat penyembuhan luka bakar dalam waktu 14 hari, memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri. Secara *in vitro* ekstrak propolis juga menunjukkan aktivitas antiinflamasi dan antioksidan berupa penghambatan ekspresi iNOX, IL-6, TNF- α , dan jalur TLR4/NF- κ B.⁵³ Penelitian oleh Manginstar *et al.* (2025) pada model tikus Wistar dengan luka bakar derajat II menunjukkan aktivitas antiinflamasi berupa penurunan kadar TNF- α dan peningkatan ekspresi VEGF, serta inhibisi pertumbuhan bakteri *MRSA* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Diameter luka yang diberi ekstrak

propolis lebih kecil dibandingkan luka yang diberikan 1% silver sulfadiazine dan 0,9% NaCl.²⁶

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

2.4 Dexpanthenol

2.4.1 Definisi

Dexpanthenol, atau D-panthenol, merupakan bentuk alkohol dari asam pantotenat (vitamin B5) yang berfungsi sebagai provitamin B5 dan merupakan isomer aktif secara biologis yang paling banyak digunakan dalam formulasi dermatologis, farmasi, dan kosmetik. Secara terminologi dan sumber, dexpanthenol bukan termasuk bahan yang langsung diekstraksi sebagai senyawa murni dari alam, namun diperoleh melalui proses sintesis kimia menggunakan bahan dasar yang berasal dari alam (*semi-sintetik*). Bahan baku awalnya umumnya berasal dari turunan tumbuhan seperti minyak nabati, plant sterols, atau sumber karbohidrat tertentu, yang kemudian melalui tahapan reaksi katalitik, reduksi, dan modifikasi struktural untuk menghasilkan bentuk provitamin yang stabil dan bioaktif.⁵⁴ Dengan demikian, dexpanthenol bukan kategori bahan alam murni (*natural extract*), tetapi juga bukan sepenuhnya sintesis buatan *petrochemical*, melainkan bahan kimia hasil

biotransformasi/sintesis berbasis bahan alam yang telah dimurnikan dengan standar grade farmasi. Pada tubuh atau setelah diaplikasikan topikal pada kulit, dexpanthenol akan mengalami konversi enzimatis menjadi asam pantotenat (vitamin B5). Asam pantotenat merupakan komponen penting dari koenzim A (CoA) yang berperan dalam sintesis asam lemak, fosfolipid, dan sphingolipid, sehingga membantu menunjang stabilisasi struktur membran sel, pembentukan barrier lipid stratum korneum, serta berbagai proses regeneratif pada jaringan kulit.^{55,56}

Dexpanthenol diketahui dapat meningkatkan hidrasi kulit, optimalisasi fungsi sawar kulit dengan menurunkan *transepidermal water loss* (TEWL), stabilisasi membran sel yang mengurangi iritasi, serta stimulasi proliferasi keratinosit dan fibroblas yang berperan dalam produksi kolagen dan percepatan regenerasi jaringan. Dengan demikian, dexpanthenol memiliki efek protektif, hidrasi, regeneratif, serta mendukung proses penyembuhan luka dan perbaikan barrier kulit.^{54,56}

2.4.2 Peran Dexpanthenol dalam Penyembuhan Luka

Proses penyembuhan luka melibatkan interaksi kompleks yang mencakup perlindungan terhadap infeksi dan radikal bebas, modulasi inflamasi, serta dukungan terhadap proliferasi dan migrasi sel. Dexpanthenol diketahui memiliki sifat-sifat yang relevan dengan mekanisme tersebut, sehingga berpotensi mendukung setiap fase penyembuhan luka secara simultan.^{6,27}

2.4.2.1 Perlindungan dari Infeksi

Dexpanthenol, prekursor dari asam pantotenat, berperan penting dalam memperbaiki dan menjaga integritas sawar kulit. Dengan meningkatkan proliferasi keratinosit, panthenol membantu pemulihan epidermis dan mencegah penetrasi mikroba patogen ke dermis serta jaringan subkutan.⁶

2.4.2.2 Aktivitas Antioksidan

Dexpanthenol berperan dalam menurunkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebih sehingga dapat mengurangi stres oksidatif dan kerusakan jaringan. Studi *in vitro* menunjukkan bahwa dexpanthenol maupun asam pantotenat menghambat produksi ROS yang bergantung pada NADPH, sekaligus meningkatkan ekspresi protein sitoprotektif antiinflamasi heme oxygenase-1 (HO-1). Mekanisme ini membantu menyeimbangkan fungsi radikal bebas untuk pertahanan terhadap infeksi, sekaligus melindungi jaringan sehat. Secara molekular, dexpanthenol juga dilaporkan dapat meningkatkan persinyalan Nrf2/HO-1 yang berperan penting dalam penekanan stres oksidatif.^{6,57,58}

2.4.2.3 Modulasi Inflamasi

Dexpanthenol turut berperan dalam regulasi respons inflamasi dengan memodulasi ekspresi gen pro- dan antiinflamasi. Studi *in vivo* dan *in vitro* menunjukkan bahwa perlakuan dengan dexpanthenol memengaruhi ekspresi IL-6, IL-1 β , HO-1, dan MMP3.¹⁸ IL-6 berperan dalam transisi dari fase inflamasi menuju fase proliferasi, sedangkan MMP3 berperan dalam re-epitelisasi, kontraksi luka, angiogenesis, dan regulasi mediator

inflamasi makrofag. Dengan demikian, dexpanthenol berkontribusi dalam menekan inflamasi berlebih dan membantu transisi luka ke fase proliferasi.^{9,18,27,57}

2.4.2.4 Dukungan terhadap Proliferasi Sel

Dexpanthenol mempercepat proliferasi keratinosit dan fibroblas, dua sel utama yang berperan dalam perbaikan jaringan. Secara *in vitro*, kultur kulit yang diberi perlakuan 0,1% dexpanthenol menunjukkan regenerasi epidermis yang lebih cepat dibandingkan kontrol.⁶ Selain itu, dexpanthenol meningkatkan migrasi fibroblas, sintesis kolagen, serta ekspresi *keratinocyte growth factor* yang mempercepat re-epitelisasi dan pembentukan jaringan granulasi. Secara klinis, preparasi topikal yang mengandung dexpanthenol menunjukkan percepatan penutupan luka, penurunan *transepidermal water loss* (TEWL), serta hasil visual re-epitelisasi yang lebih baik dibandingkan kontrol seperti petroleum jelly.⁶

2.5 Silver Sulfadiazine

Silver sulfadiazine merupakan agen topikal turunan sulfa yang digunakan untuk mencegah dan menangani infeksi pada luka. FDA telah menyetujui penggunaan silver sulfadiazine untuk menangani luka bakar derajat II dan III sejak tahun 1973. Silver sulfadiazine merupakan antimikroba bakterisid spektrum luas yang efektif membunuh bakteri gram positif, Gram negatif, dan beberapa jamur.^{4,59}

Aktivitas antibakteri silver sulfadiazine disebabkan oleh kandungan ion perak. Silver sulfadiazine bekerja pada permukaan kulit, namun tidak banyak berpenetrasi ke lapisan kulit yang lebih dalam. Ion perak berikatan dengan jaringan

dan protein intraselular, DNA, dan RNA bakteri sehingga mengganggu rantai respirasi. Toksisitas selular bakteri dimediasi oleh ROS yang dibentuk silver sulfadiazine, menyebabkan perubahan struktural pada dinding sel, membran intraselular, dan membran inti.^{4,59,60}

Meskipun silver sulfadiazine dianggap sangat aman, penggunaannya harus dibatasi karena dapat memperlambat re-epitelialisasi dan membentuk pseudoeschar yang menghalangi penilaian luka bakar. Perak juga bersifat sitotoksik yang dapat mengganggu penyembuhan luka bakar non-infeksi. Efek samping yang umum termasuk gangguan hematologi seperti agranulositosis, anemia aplastik, anemia hemolitik, dan leukopenia, serta reaksi dermatologi seperti erythema multiforme, pruritus, dan sindrom Stevens-Johnson. Penggunaan pada pasien dengan reaksi alergi sebelumnya terhadap silver sulfadiazine atau sulfonamides harus dihindari.^{4,59}

2.6 Luka Bakar

2.6.1 Definisi dan Klasifikasi

Luka bakar terjadi akibat kontak kulit dengan sumber panas, seperti suhu tinggi, listrik, gesekan, radiasi, atau bahan kimia. Faktor-faktor yang memengaruhi tingkat keparahan luka bakar meliputi suhu, durasi paparan, lokasi luka, dan luas permukaan tubuh yang terpengaruh. Berdasarkan kedalamannya, luka bakar terbagi menjadi 3 atau 4 derajat, tergantung pada referensi yang digunakan:^{11,13,23}

a. Luka bakar derajat I (*superficial Burn*)

Luka bakar superfisial hanya melibatkan lapisan epidermis tanpa mengenai dermis. Manifestasi klinis yang tampak berupa eritema (kemerahan) dan rasa nyeri, namun tidak disertai pembentukan bula. Kondisi ini umumnya disebabkan oleh paparan sinar matahari (sunburn) ringan. Penyembuhan terjadi secara spontan dalam waktu $\pm 5-7$ hari tanpa meninggalkan jaringan parut (skar).

b. Luka bakar derajat II (*partial-thickness*)

Superficial partial-thickness burn

Luka bakar ini melibatkan epidermis dan sebagian lapisan dermis papiler. Secara klinis ditandai oleh bula (lepuh), eritema, serta rasa nyeri yang hebat akibat ujung saraf masih utuh. Proses penyembuhan berlangsung dalam waktu 2–3 minggu, biasanya tanpa meninggalkan jaringan parut permanen, meskipun dapat terjadi perubahan warna kulit sementara.

Deep partial-thickness burn.

Luka bakar jenis ini mengenai epidermis dan lapisan dermis retikular. Daerah luka tampak pucat atau keputihan, dengan penurunan sensasi nyeri karena sebagian ujung saraf mengalami kerusakan. Proses penyembuhan memerlukan waktu 3–8 minggu dan sering kali diikuti oleh pembentukan jaringan parut (skar) serta risiko kontraktur kulit.

c. Luka bakar derajat III (*full-thickness burn*)

Luka bakar *full-thickness* melibatkan seluruh ketebalan kulit, baik epidermis maupun dermis. Secara klinis tampak kulit kering, keras, seperti kulit

terbakar (*leathery*) dan tidak disertai rasa nyeri akibat kerusakan total pada ujung saraf. Luka bakar jenis ini tidak dapat sembuh secara spontan dan memerlukan tindakan pembedahan seperti skin grafting untuk perbaikan jaringan.

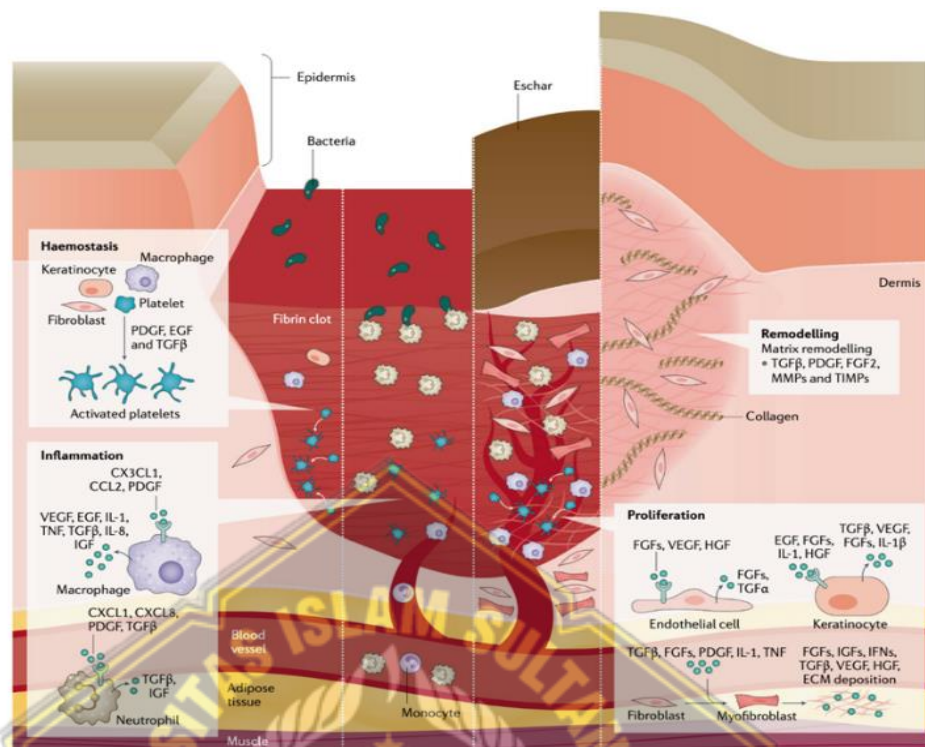
d. Luka bakar derajat IV (*fourth degree burn*)

Luka bakar derajat empat merupakan bentuk paling berat, yang meluas hingga ke jaringan subkutan, otot, bahkan tulang. Kerusakan jaringan yang luas memerlukan tindakan bedah rekonstruktif dan dalam beberapa kasus amputasi mungkin diperlukan untuk mencegah komplikasi sistemik dan infeksi.

2.6.2 Mekanisme Penyembuhan Luka Bakar

Setelah terjadi cedera, kulit yang mengalami luka bakar terbagi menjadi 3 zona: zona koagulasi, zona stasis, dan zona hiperemia. Zona koagulasi merupakan zona luka yang paling banyak mengalami kerusakan, terletak di pusat luka bakar dengan nekrosis koagulasi dan kerusakan jaringan ireversibel. Zona stasis atau zona iskemia terletak di perifer zona koagulasi, ditandai dengan penurunan perfusi jaringan. Pemulihan zona stasis dapat dilakukan dengan resusitasi dan penanganan luka yang memadai. Zona hiperemia merupakan zona luka paling luar yang dikarakterisasi dengan peningkatan vasodilatasi inflamasi dan jaringan yang masih hidup.¹

Proses penyembuhan luka meliputi beberapa fase yang dinamis dan saling tumpang tindih. Terdapat 4 fase penyembuhan luka, yaitu fase hemostasis, inflamasi, proliferasi dan remodeling seperti pada Gambar 2.5.⁶¹



Gambar 2.5 Patofisiologi Luka Bakar⁶¹

(1) Fase Hemostasis (Menit ke 0-10)

Hemostasis terjadi segera setelah cedera dan merupakan fase pertama penyembuhan luka. Proses ini meliputi vasokonstriksi, aktivasi dan agregasi platelet, serta koagulasi yang menghasilkan bekuan fibrin sebagai matriks sementara. Aktivasi platelet juga memicu degranulasi dan pelepasan lebih dari 300 mediator bioaktif, termasuk sitokin, faktor pertumbuhan (PDGF, VEGF, EGF, TGF- β), serta molekul adhesi seperti integrin dan vWF. Molekul-molekul ini tidak hanya menghentikan perdarahan tetapi juga memediasi komunikasi antar sel, merekrut leukosit, dan mengaktifkan fibroblas serta sel endotel.⁶

(2) Fase Inflamasi (Hari ke 0-3)

Vasodilatasi di lokasi cedera memicu kemotaksis makrofag dan neutrofil, menginisiasi fase inflamasi. Neutrofil dan makrofag melepaskan sitokin dan kemokin (seperti IL-1, IL-8, dan TNF) serta faktor pertumbuhan (termasuk TGF- β , IGF, dan VEGF) yang juga berperan dalam pembersihan debris dan patogen dari lokasi cedera. Fase inflamasi dimulai dalam 24 jam setelah cedera dan dapat berlangsung selama beberapa minggu hingga bulan, tergantung pada keparahan cedera.⁶²

(3) Fase Proliferasi (Hari ke 3-21)

Pada fase proliferasi, pelepasan sitokin dan faktor pertumbuhan memicu perekrutan dan aktivasi fibroblas dan keratinosit ke lokasi luka. Hal ini menyebabkan penggantian matriks sementara dengan matriks jaringan ikat, pembentukan jaringan granulasi (jaringan ikat baru dan pembuluh darah mikroskopis), angiogenesis, dan epitelialisasi. Sel endotel diaktifkan oleh faktor pertumbuhan (co: VEGF, HGF, dan FGF) untuk memulai angiogenesis. VEGF menginduksi pelepasan faktor pro-angiogenik (co: bFGF atau FGF-2, Ang-1 dan Ang-2) oleh sel endotel, platelet, sel otot polos, sel inflamasi, dan fibroblast. bFGF atau FGF-2 menghasilkan efek mitogenik pada sel endotel, meningkatkan permeabilitas vaskular, terlibat dalam tubulogenesis, proteolysis ECM, dan proliferasi fibroblast. Angiopoietin-1 berperan dalam mempertahankan integritas pembuluh darah, mencegah kematian sel

endotel, dan menghambat ekspresi Angiopoietin-2. Sementara Angiopoietin-2 dapat bersifat anti-angiogenik, mengganggu kestabilan pembuluh darah. Fibroblas berdiferensiasi menjadi myofibroblas yang berperan dalam deposisi ECM.¹

(4) Fase Remodeling (Hari ke 21- 1 tahun)

Pada fase terakhir, faktor pertumbuhan seperti *matrix metalloproteinase* (MMP) dan *tissue inhibitors of metalloproteinase* (TIMP) memicu remodeling ECM dan jaringan granulasi matang, sehingga meningkatkan kekuatan tarik (*tensile strength*). Durasi penyembuhan bergantung pada beberapa faktor, termasuk keparahan cedera, aktivasi kaskade inflamasi, dan nutrisi.⁶³

2.6.3 Patomekanisme Molekular Penyembuhan Luka Bakar

Segera setelah cedera, pembuluh darah berkontraksi dan trombosit menempel pada matriks subendotel yang terekspos. Aktivasi trombosit terjadi melalui interaksi reseptor dengan kolagen, fibronectin, dan von Willebrand factor, serta diperkuat oleh integrin yang memediasi adhesi kuat antar trombosit dan ke ECM. Trombosit teraktivasi melepaskan >300 molekul bioaktif termasuk PDGF, TGF- β , VEGF, trombin, CCL5. Selain menghentikan perdarahan, bekuan fibrin (eschar) yang terbentuk berfungsi sebagai *scaffold* bagi infiltrasi sel imun, fibroblas, dan sel endotel. Trombosit melalui TLR juga menghasilkan peptida antimikroba, sedangkan prostacyclin, antithrombin III, dan *activated protein C* mencegah koagulasi berlebihan. Sementara itu, sel otot

polos dan sel endotel beregenerasi dengan stimulasi PDGF, dibantu perekrutan progenitor endotel.⁶¹

Pada fase inflamasi, cedera memicu pelepasan DAMP dari sel nekrotik dan PAMP dari bakteri, mengaktifasi sel imun residen melalui *pattern recognition receptors* (PRRs), seperti TLR. Hal ini mengaktifkan jalur inflamasi dan pelepasan sitokin proinflamasi (IL-1 β , TNF- α) dan kemokin yang menarik leukosit. Selektin (E, P-selectin) pada endotel penting untuk adhesi neutrofil dan monosit. Neutrofil adalah sel pertama yang datang, ditarik oleh IL-1 β , TNF- α , LPS, dan segera melakukan fagositosis, pelepasan ROS, protease, *neutrophil extracellular traps* (NET), serta memproduksi lebih banyak IL-1 β melalui aktivasi NLRP3 inflammasom. Inflammasom berperan sentral dalam mengaktifkan caspase-1 yang memproses IL-1 β dan IL-18, memperkuat respons inflamasi akut. Selanjutnya, monosit berdiferensiasi menjadi makrofag, yang awalnya bersifat proinflamasi (M1) dan menghasilkan ROS, IL-1 β , IL-6, TNF- α , VEGF, dan PDGF, lalu bertransisi ke fenotipe antiinflamasi (M2) dan menghasilkan IL-4, IL-10, TGF- β , IL-13, arginase). Makrofag M2 berperan penting dalam resolusi inflamasi, fibroplasia, re-epitelisasi, dan angiogenesis. Sel T residen dan regulatorik, serta mast cell yang melepaskan histamin, ikut berkontribusi dalam mengatur inflamasi. Ketidakseimbangan inflamasi (terlalu lama atau terlalu lemah) dapat menghambat transisi fase ini, menjadi dasar luka kronis.^{23,61}

Pada fase proliferasi, keratinosit di tepi luka mengalami aktivasi (dipicu ROS, *growth factor*, sinyal mekanik) dan bermigrasi menutup luka dengan

bantuan MMP-1, MMP-9, plasmin. Fibroblas teraktivasi oleh sinyal dari platelet, makrofag, dan endotel, khususnya TGF- β dan PDGF, lalu memproduksi kolagen, fibronectin, dan proteoglikan. Sebagian fibroblas berdiferensiasi menjadi miofibroblas (α -SMA) yang mengontraksikan luka. TGF- β dari platelet, makrofag, dan fibroblas memainkan peran utama dalam transisi fibroblas menuju miofibroblas dan deposisi ECM. Hipoksia lokal mengaktifkan HIF-1 α yang mendorong produksi VEGF, merangsang angiogenesis bersama faktor lain (FGF-2, PDGF). Makrofag juga mendukung angiogenesis dengan VEGF, TNF- α , TGF- β , dan MMPs. Selain itu, neuropeptida (substance P) dan sel glia ikut mendukung proliferasi dan reinnervasi jaringan.⁶

Pada tahap akhir, fibroblas menggantikan matriks fibrin awal dengan hyaluronan, fibronectin, proteoglikan, dan kolagen tipe III. Seiring waktu, kolagen tipe III diganti oleh kolagen tipe I, meningkatkan kekuatan tarik jaringan hingga $\pm 80\%$ kekuatan kulit normal. TGF- β tetap aktif mengatur deposisi kolagen dan diferensiasi miofibroblas. Integrin di permukaan fibroblas (misalnya integrin $\alpha 2\beta 1$) berinteraksi dengan ECM untuk mengatur proliferasi, orientasi, dan kontraksi matriks. TGF- β dan tegangan mekanik merangsang diferensiasi fibroblas menjadi miofibroblas (α -SMA), yang mengikat matriks fibril dan menariknya untuk kontraksi luka. MMPs dan TIMP mengatur keseimbangan degradasi dan sintesis kolagen. Elastin dibentuk ulang dari tropoelastin, meski susunan elastin pada jaringan parut sering abnormal. Remodeling juga melibatkan apoptosis makrofag, fibroblas, dan sel endotel,

meninggalkan jaringan parut matang yang relatif lebih kuat namun tidak elastisitasnya tidak setara dengan kulit normal.⁶¹

2.6.4 Faktor yang Mempengaruhi Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka merupakan proses kompleks yang dipengaruhi oleh berbagai faktor lokal dan sistemik. Beberapa faktor utama yang berperan meliputi penyakit kronis, hipoksia jaringan, obesitas, dan malnutrisi.⁶⁴

a. Penyakit kronis

Penyakit kronis seperti diabetes melitus dan inflamasi kronis dapat memperburuk penyembuhan luka. Pada pasien diabetes melitus, gangguan pembuluh darah, neuropati, peningkatan risiko infeksi, serta kelainan seluler dapat memperlambat proses regenerasi. Dermatitis atopik yang dipicu inflamasi kronis tipe 2 (IL-4, IL-5, IL-13) menyebabkan rekrutmen eosinofil, kerusakan jaringan, dan inflamasi persisten, sehingga memicu terbentuknya ulkus kronis.^{64,65}

b. Hipoksia jaringan

Hipoksia akut setelah cedera memicu aktivasi HIF-1 α yang mendukung modulasi imun, angiogenesis, dan produksi faktor pertumbuhan untuk mempercepat penyembuhan. Akan tetapi, hipoksia kronis justru memperburuk kondisi dengan meningkatkan ROS, inflamasi, dan mengganggu deposisi ECM. Kondisi hipoksia kronis juga menekan angiogenesis dan migrasi sel, sehingga menghambat pembentukan jaringan granulasi.⁶⁴

c. Obesitas

Pada kondisi obesitas, jumlah adiposit berlebih meningkatkan produksi sitokin proinflamasi (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8), sehingga memperpanjang fase inflamasi dan melemahkan respon imun. Pertumbuhan adiposit yang lebih cepat dibandingkan suplai pembuluh darah juga menyebabkan hipoksia jaringan dan kekurangan nutrisi. Selain itu, sel adiposit juga menghasilkan inhibitor angiogenesis, yang semakin mengurangi suplai darah dan memperlambat proses penyembuhan luka.^{61,65}

d. Usia

Proses penuaan berkontribusi besar terhadap gangguan penyembuhan luka melalui beberapa mekanisme. Pada kulit yang mengalami penuaan, terjadi peningkatan adhesi platelet dan pelepasan sitokin proinflamasi (PDGF, TGF- β , TGF- α) yang memicu infiltrasi neutrofil, tetapi infiltrasi monosit terhambat akibat rendahnya ekspresi molekul adhesi (ICAM-1, VCAM-1), sehingga jumlah makrofag berkurang. Kekurangan makrofag menghambat pembentukan jaringan granulasi, angiogenesis, serta sintesis kolagen dan faktor pertumbuhan, sekaligus menunda transisi dari fase inflamasi ke fase proliferasi. Selain itu, produksi PGE2 melalui aktivasi jalur COX semakin memperburuk degradasi sel sekitar dan menghambat fungsi fibroblas, sehingga kolagen berkurang. Pada saat yang sama, penuaan meningkatkan akumulasi ROS akibat inflamasi berkepanjangan, yang menimbulkan stres oksidatif kronis, peroksidasi lipid, kerusakan DNA, apoptosis, dan senescence, sehingga memperlambat proliferasi sel.

Ditambah dengan gangguan mikrosirkulasi yang menyebabkan hipoperfusi, hipoksia, serta suplai oksigen dan nutrisi yang tidak adekuat, keseluruhan faktor ini menyebabkan proses penyembuhan luka pada kulit tua menjadi tertunda dan kualitas perbaikan jaringan menurun.⁶⁶

e. Malnutrisi

Makronutrisi dan mikronutrisi diperlukan di semua fase penyembuhan luka. Protein dibutuhkan untuk kolagen & ECM, arginin mendukung fungsi makrofag, sementara karbohidrat dan lipid menyediakan energi serta membantu penyerapan vitamin larut lemak (A, D, E, K) yang penting untuk imun, stres oksidatif, dan koagulasi. Asam lemak omega-3 berperan dalam mempercepat penyembuhan luka. Kondisi malnutrisi menghambat pelepasan sitokin dan respon imun, meningkatkan risiko infeksi, serta memperburuk penyembuhan luka. Suplementasi nutrisi pra-operasi terbukti mengurangi komplikasi, mempercepat penyembuhan, dan menurunkan lama rawat inap.^{66,67}

f. Stres psikologis

Kondisi stres memicu aktivasi poros hipotalamus–pituitari–adrenal yang meningkatkan pelepasan kortisol, glukokortikoid, dan katekolamin. Peningkatan kortisol menekan respons imun dengan menghambat produksi sitokin penting seperti IL-1 β , IL-6, dan TNF- α . Akibatnya, fungsi imun melemah dan proses penyembuhan luka menjadi terganggu.⁶⁴

2.7 Sediaan Gel

Gel adalah sistem semisolid homogen berupa matriks polimer tiga dimensi (3D) yang bersifat lipofilik atau hidrofilik. Sistem dispersi gel terdiri atas medium pendispersi dan konstituen terdispersi yang tersebar secara merata. Gel umumnya memiliki tampilan transparan atau tembus cahaya (*translucent*). Preparasi sediaan gel dilakukan dengan teknik fusi atau dengan menggunakan agen pembentuk gel (*gelling agents*). Berdasarkan sifat fisik *gelling agent*, sistem berbasis gel dapat dibagi organogel dan hidrogel. Hidrogel terdiri dari koloid terdispersi dan komponen larut air, sementara organogel menggunakan komponen berminyak lipofilik. Berdasarkan pelarutnya, gel terbagi menjadi xerogel dan gel aqueous. Xerogel adalah gel padat dengan sedikit pelarut setelah dilakukan penguapan pelarut. Gel memiliki kemampuan membebaskan bahan aktif yang terkandung secara terkontrol (*controlled-release*).⁶⁸

Sistem penyembuhan luka yang ideal perlu memiliki biokompatibilitas yang baik dengan jaringan luka, bersifat *biodegradable*, mampu menyediakan lingkungan yang lembap di area luka, dapat menyerap eksudat, memfasilitasi aliran oksigen, memiliki aktivitas antibakteri, daya rekat ke kulit rendah, serta membantu meningkatkan regenerasi jaringan dan bekuan darah. Hidrogel mengandung lebih dari 90% air, sehingga sangat efektif digunakan dalam perawatan luka karena kemampuannya untuk mempertahankan kelembapan di sekitar luka.⁶⁹

Pada luka bakar, panas yang diserap epidermis akan diteruskan ke lapisan di bawahnya. Penggunaan agen pendingin pada kulit dapat mengurangi tingkat keparahan kerusakan dan meminimalisasi pembentukan jaringan parut. Air dalam

hidrogel membantu proses pendinginan dan menjaga suhu luka tetap stabil, serta meredakan rasa sakit dan melindungi luka dari infeksi. Lingkungan yang lembap dapat mendukung angiogenesis dan pembentukan kolagen. Pemilihan hidrogel sebagai basis dalam sediaan mengandung kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol dalam penelitian ini dinilai sudah tepat.⁶⁹

2.8 Model Hewan Uji

Penggunaan model hewan untuk penelitian penting dilakukan terutama untuk pengujian bahan-bahan yang belum diketahui profil toksisitasnya. Kelinci *New Zealand*, tikus *Sprague-Dawley*, tikus *Wistar* albino, mencit *BALB/c*, dan babi adalah hewan-hewan yang telah digunakan dalam penelitian luka bakar, dengan tikus sebagai hewan yang paling sering dipakai.²³ Tikus sering digunakan karena biaya perawatan yang relatif rendah, mudah ditangani, membutuhkan sedikit ruang, memungkinkan eksperimen dilakukan terhadap jumlah hewan yang besar untuk mendapatkan hasil yang cepat, serta memiliki karakteristik penyembuhan luka yang lebih cepat. Akan tetapi terdapat perbedaan anatomi antara kulit tikus dan manusia, seperti adanya folikel rambut dan otot *panniculus carnosus* yang menyebabkan luka pada tikus lebih banyak sembuh dengan mekanisme kontraksi daripada epitelialisasi.⁷⁰

Tikus dipilih sebagai hewan uji karena kulitnya lebih tebal dan proses penyembuhan luka berlangsung lebih lama (12-14 hari, sementara pada mencit berlangsung 7 hari) sehingga memberikan gambaran yang lebih komprehensif dalam mengevaluasi luka bakar. Ukuran tubuh tikus yang 8–10 kali lebih besar juga memudahkan penanganan, pembedahan, serta memungkinkan pembuatan area luka

yang lebih luas atau multipel pada satu hewan.⁷¹ Selain itu, tikus menunjukkan respon stres yang lebih rendah terhadap interaksi manusia, sehingga lebih stabil sebagai model uji dibandingkan mencit.⁷²

Selain kemampuannya dalam memberikan model yang komprehensif untuk penelitian luka bakar, tikus Wistar dipilih karena dapat memberikan gambaran respon inflamasi akibat luka bakar. Studi meta-analisis terhadap model hewan dengan luka bakar menunjukkan peningkatan signifikan mediator inflamasi secara sistemik, seperti IL-1 β , IL-6, IL-10, IL12p70, IL-17, IFN- γ , TNF- α , CXCL1 (GRO α), CXCL2, CXCL8 (IL-8), CCL2 (MCP-1), G-CSF, PGE2, TGF- β 1, VEGF-A, c-reactive protein (CRP), histamine, HMGB1, dan nitric oxide (NO). Sementara di jaringan luka, terjadi peningkatan kadar IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , CXCL1, CXCL2, CCL2, CCL3, EGF, FGF2, TGF- β 1, VEGFA, dan NO. Penelitian ini menggunakan tikus Wistar jantan karena menghindari bias akibat kromosom seks dan sistem hormon tikus betina yang dapat memengaruhi respon imun.⁷³

2.9 Induksi Luka Bakar pada Hewan Uji

Induksi luka bakar pada model hewan dapat dilakukan dengan berbagai metode, seperti penggunaan air panas, logam panas, listrik, parafin cair, hingga uap panas.⁷⁴ Pada induksi luka bakar dengan logam panas, kedalaman luka bakar yang dihasilkan pada model tikus bergantung pada beberapa faktor, seperti suhu kulit, siklus pertumbuhan rambut tikus, bahan, suhu, dan berat batang logam, serta durasi induksi. Guo *et al.* (2017) dalam studinya melaporkan bahwa spesifikasi batang logam untuk menghasilkan model luka bakar derajat II pada punggung tikus *Sprague-Dawley* adalah suhu 75°C, berat 300 g, dan durasi 10 detik.²³ Sementara

pada penelitian lain yang menggunakan model tikus Wistar jantan, induksi luka bakar dengan batang tembaga selama 10 detik dengan suhu 100-150°C menghasilkan luka bakar derajat II.⁷⁵



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori

Proses penyembuhan luka bakar merupakan mekanisme biologis yang kompleks melalui empat fase utama, yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodelling. Pada luka bakar derajat II, kerusakan jaringan yang mencapai epidermis hingga sebagian dermis, pada fase inflamasi memicu pelepasan DAMP yang mengaktivasi sel imun residen melalui *pattern recognition receptors* (PRRs), seperti *Toll-like receptor* (TLR) dan trombosit ke area luka. Aktivasi TLR menginduksi jalur persinyalan NF- κ B, sehingga meningkatkan produksi sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, IL-8, IL-18, dan TNF. Peningkatan sitokin ini memperkuat siklus inflamasi dan berpotensi berkembang menjadi *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS).^{29,58}

Pelepasan mediator inflamasi menstimulasi Neutrofil dan Monosit, menginisiasi fase inflamasi. Neutrofil berperan membersihkan debris dan membunuh bakteri melalui pelepasan ROS dalam jumlah besar, sementara Monosit makrofag proinflamasi (M1) mensekresikan IL-1 dan TNF- α , yang mendorong produksi protein fase akut serta IL-6 sebagai pirogen endogen.¹ Aktivasi inflammasom NLRP3 oleh ROS pada makrofag M1 semakin memperparah inflamasi melalui pelepasan IL-1 β , menciptakan lingkaran umpan balik yang menghambat peralihan M1 ke fenotipe antiinflamasi M2, sehingga memperlambat

transisi ke fase proliferasi, sedangkan trombosit berfungsi sebagai salah satu faktor pembekuan.⁷⁶

Setelah fase inflamasi awal, TGF- β menjadi mediator penting yang dilepaskan oleh platelet, makrofag, fibroblas, keratinosit, dan sel endotel pada area luka bakar.³⁶ Makrofag M2 merupakan sumber utama TGF- β .⁷² TGF- β diproduksi dalam bentuk laten yang diaktivasi oleh integrin. Integrin telah diaktifkan platelet pada tahap sebelumnya yaitu hemostasis. TGF- β aktif selanjutnya mengaktifasi jalur Smad2/3. Kompleks Smad2/3 selanjutnya berpindah ke inti sel untuk menstimulasi transkripsi gen-gen yang mendukung penyembuhan, seperti kolagen, fibronectin, dan faktor pro-angiogenik.^{41,77}

Pada luka bakar, peran utama TGF- β adalah mempercepat resolusi fase inflamasi dengan menekan produksi sitokin proinflamasi berlebih, sekaligus mendorong transisi makrofag M1 proinflamasi menuju fenotipe M2 antiinflamasi.⁷⁷ Hal ini membantu meredam siklus inflamasi berkepanjangan yang menjadi ciri luka bakar derajat II. Selain efek antiinflamasi, TGF- β juga menginisiasi fase proliferasi dengan merangsang migrasi dan proliferasi fibroblas, diferensiasi miofibroblas, serta deposisi matriks kolagen awal. Di saat yang sama, TGF- β menstimulasi angiogenesis melalui induksi VEGF, yang penting untuk memulihkan suplai oksigen ke jaringan luka.⁴¹ Dengan demikian, keberadaan TGF- β pada luka bakar bukan hanya membantu mengendalikan inflamasi, tetapi juga berperan sebagai penghubung penting antara fase inflamasi dan fase proliferasi, sehingga mempercepat penyembuhan luka.

Penyembuhan luka merupakan proses biologis yang kompleks dan dapat terhambat oleh berbagai faktor internal maupun eksternal yang berpotensi menjadi variabel perancu, seperti diabetes, usia, status hipoksia jaringan, obesitas, nutrisi, dan stres psikologis. Pada luka diabetes, penyembuhan terhambat oleh inflamasi berkepanjangan akibat dominasi makrofag M1, peningkatan micro-RNA (miRNA) dan sitokin proinflamasi, disertai akumulasi AGEs dan ROS yang merusak ECM serta memperpanjang stres oksidatif. Selain itu, keberadaan *senescence* fibroblas yang menurunkan sintesis kolagen, sehingga kontraksi luka melemah dan penyembuhan menjadi lambat.⁷⁸ Penuaan menghambat penyembuhan luka, ditandai oleh pemendekan telomer yang memicu penuaan sel, serta pelepasan mediator inflamasi (SASP) yang memperpanjang inflamasi serta menurunkan fungsi fibroblas dan angiogenesis.⁷⁹

Oksigen sangat penting dalam semua fase penyembuhan luka karena mendukung produksi ATP, fungsi imun, migrasi keratinosit dan fibroblas, serta sintesis kolagen. Hipoksia sementara mengaktifkan jalur *hypoxia-inducible factors* 1 α (HIF-1 α) yang merangsang respons imun, tetapi hipoksia kronis justru menghambat proliferasi sel, angiogenesis, dan remodeling, sehingga menunda penyembuhan luka bakar.⁷⁵ Stres kronis meningkatkan hormon kortisol yang menekan sitokin proinflamasi dan menurunkan aktivitas MMP, sehingga menghambat fase inflamasi dan remodeling. Sementara itu, obesitas meningkatkan makrofag M1 dan sitokin proinflamasi (TNF- α , IL-6), menekan VEGF, serta meningkatkan degradasi matriks oleh MMP.⁶¹ Makronutrisi dan mikronutrisi diperlukan di semua fase penyembuhan luka. Protein dibutuhkan untuk kolagen &

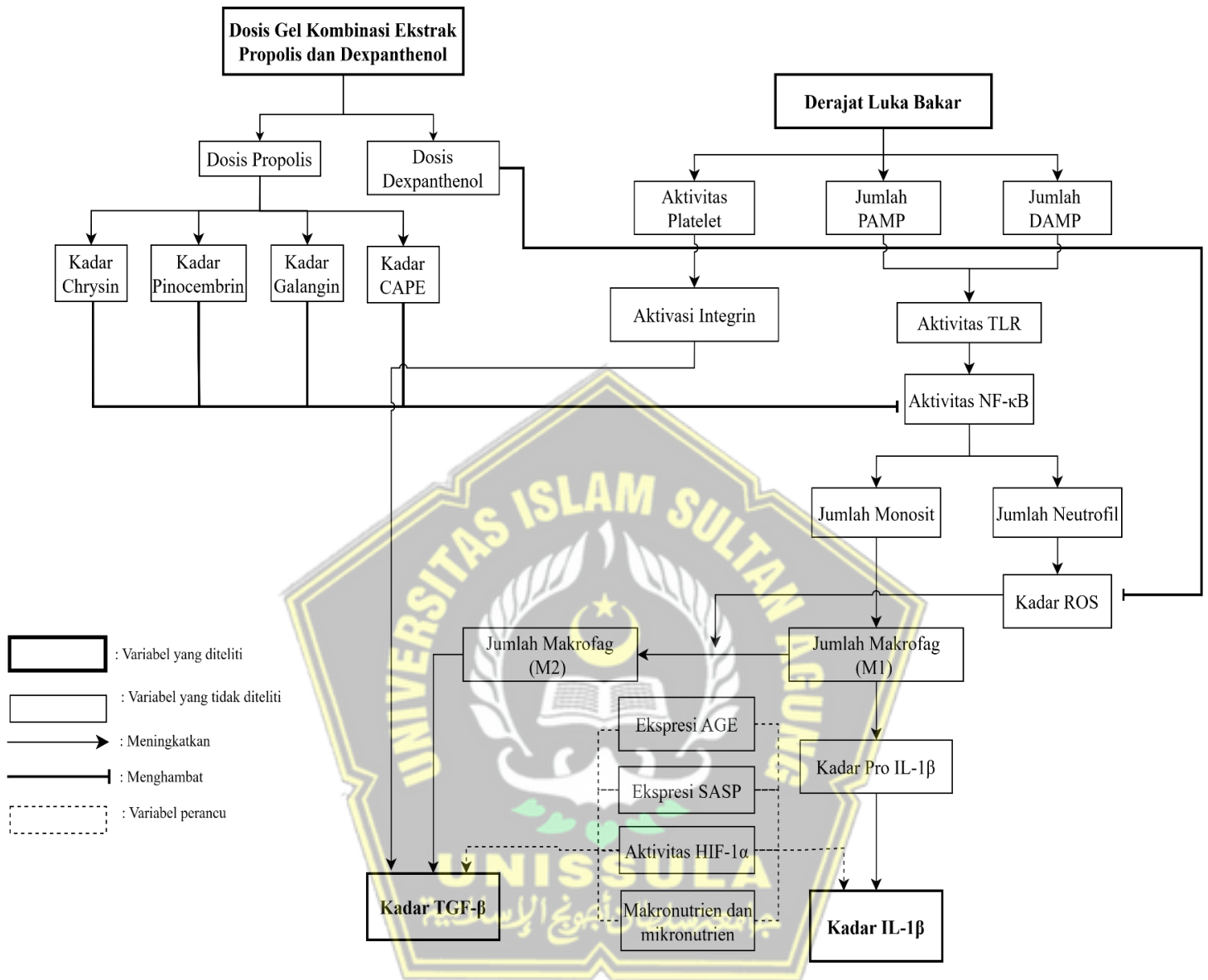
ECM, arginin mendukung fungsi makrofag, sementara karbohidrat dan lipid menyediakan energi serta membantu penyerapan vitamin larut lemak (A, D, E, K) yang penting untuk imun, stres oksidatif, dan koagulasi. Kondisi malnutrisi menghambat pelepasan sitokin dan respon imun, meningkatkan risiko infeksi, serta memperburuk penyembuhan luka.⁶³

Kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol dapat menjadi alternatif yang menjanjikan dalam menangani luka bakar. Propolis mengandung berbagai senyawa golongan polifenol yang bertanggung jawab dalam berbagai aktivitas farmakologis. Kandungan utama propolis yaitu flavonoid pinocembrin, chrysin, galangin, dan asam fenolat CAPE yang berperan penting dalam penyembuhan luka. Empat senyawa tersebut dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi, utamanya melalui inhibisi persinyalan NF- κ B, Flavone chrysin dilaporkan dapat menekan faktor transkripsi NF- κ B sehingga menghambat produksi TNF- α dan IL-1 β .^{16,49} Flavonol galangin menekan inflamasi melalui inhibisi persinyalan NF- κ B dan PI3K/AKT, serta diketahui mampu meningkatkan ekspresi TGF- β yang berperan penting dalam aktivasi fibroblas, deposisi kolagen, dan pembentukan matriks ekstraseluler selama fase proliferasi penyembuhan luka.⁵⁰ Flavanone pinocembrin menekan ROS melalui peningkatan ekspresi enzim antioksidan dan melindungi mitokondria melalui persinyalan sumbu ERK1/2-Nrf2. Pinocembrin juga menghambat persinyalan NF- κ B dan PI3K/AKT. Aktivitas antiinflamasi CAPE diperoleh melalui inhibisi jalur persinyalan NF- κ B dan PI3K/AKT, serta modulasi jalur MAPK. CAPE juga meningkatkan persinyalan Keap1/Nrf2/ARE dan menginduksi HO-1 untuk menekan ROS.¹⁶ Selain itu, CAPE dilaporkan dapat meningkatkan

ekspresi TGF- β yang berperan dalam regulasi proliferasi fibroblas dan deposisi matriks ekstraseluler pada fase penyembuhan luka.²⁵

Di sisi lain, dexpanthenol memfasilitasi penyembuhan luka melalui perbaikan sawar kulit, pencegahan infeksi, modulasi inflamasi, serta proliferasi sel. Dexpanthenol diketahui dapat modulasi ROS dan dapat menghambat peningkatan inflamasi. Aktivasi persinyalan Nrf2/HO-1 diketahui dapat menghambat persinyalan NF-kB.⁵³ Dengan demikian, modulasi jalur persinyalan NF-kB dan ROS oleh kandungan ekstrak propolis dan dexpanthenol berkontribusi pada penurunan kadar IL-1 β dan peningkatan TGF- β .

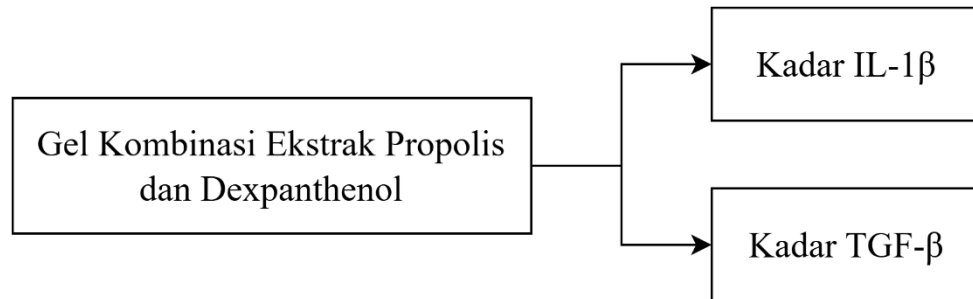
Sevinç-Özakar *et al.* (2022) telah mengevaluasi karakteristik, efektivitas, dan keamanan gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol dalam bentuk sediaan hidrogel dan organogel nanoemulsi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kedua propolis dan dexpanthenol bersifat kompatibel dan non-toksik. Pada uji antimikroba, hidrogel menunjukkan aktivitas terhadap *S. aureus*, sedangkan organogel aktif terhadap *S. aureus* dan *S. Epidermidis*.⁸⁰ Secara keseluruhan, penggunaan gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol menunjukkan potensi terapeutik yang besar dalam mengatasi luka bakar.



Gambar 3.1 Kerangka Teori

Gambar 3.1 menggambarkan kerangka teori pada penelitian ini. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu gel kombinasi ekstrak propolis dan Dexpanthenol, sementara variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar IL-1β dan TGF-β pada jaringan kulit tikus Wistar.

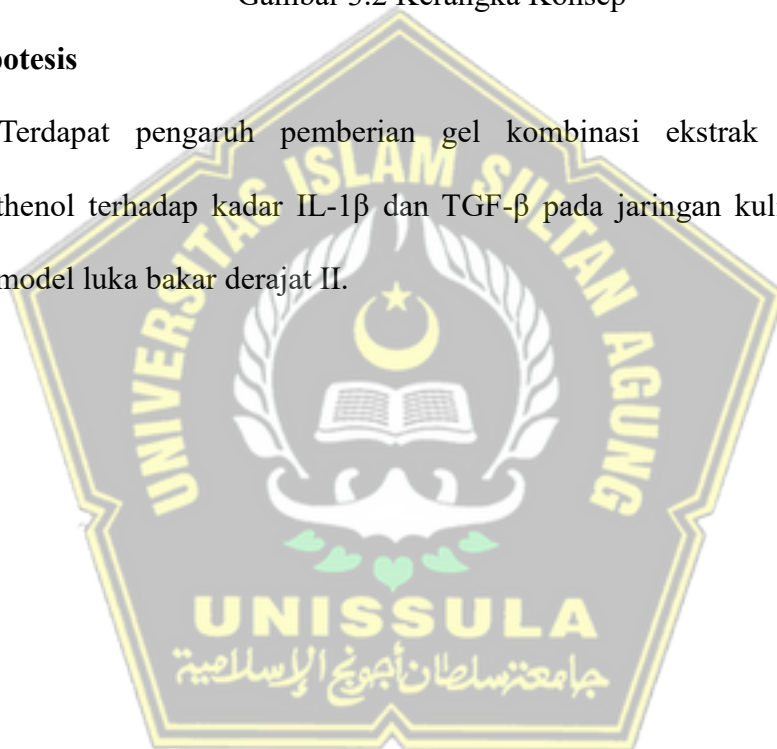
3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol terhadap kadar IL-1 β dan TGF- β pada jaringan kulit tikus jantan Wistar model luka bakar derajat II.

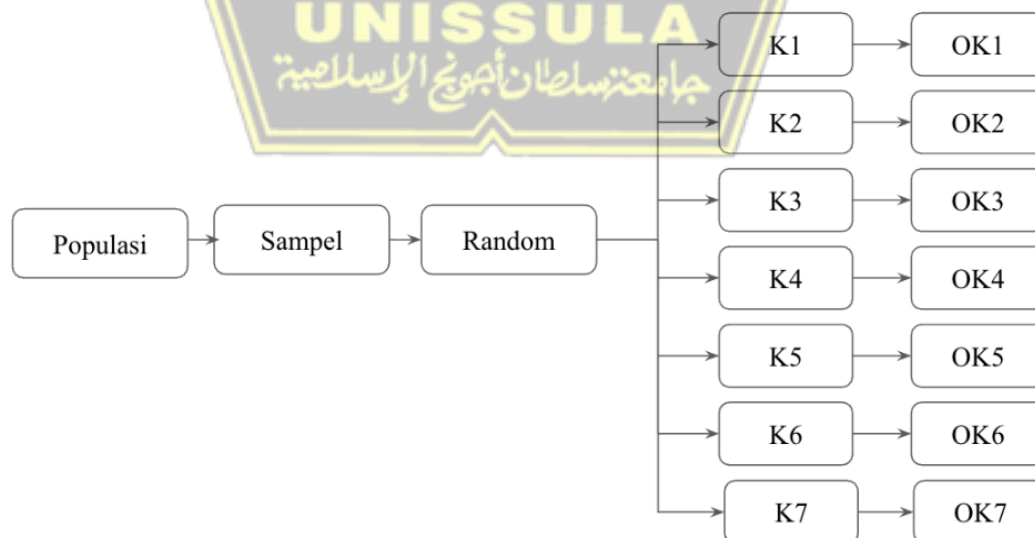


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan uji eksperimental menggunakan metode *Post Test Only Control Group Design* untuk menilai efek pemberian gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol terhadap kadar IL-1 β dan TGF- β jaringan kulit tikus Wistar model luka bakar derajat IIb. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan kelompok perlakuan dan kontrol. RAL yaitu desain penelitian di mana seluruh unit percobaan yang homogen dibagi secara acak ke kelompok perlakuan dan kontrol, sehingga tiap unit memiliki peluang sama untuk mendapat perlakuan. Penelitian ini mengevaluasi efek kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol terhadap luka bakar, serta membandingkan efek perlakuan pada kelompok sehat, kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelompok perlakuan (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

1. K1 (kontrol sehat): Tikus sehat diberi pakan standar dan tanpa induksi luka bakar derajat II dan tanpa perlakuan.
2. K2 (kontrol negatif): tikus diberi pakan standar, induksi luka bakar, dan *base gel*.
3. K3 (kontrol positif): tikus diberi pakan standar, induksi luka bakar, dan silver sulfadiazine 1%
4. K4 (Perlakuan 1): tikus diberi pakan standar, induksi luka bakar, dan gel ekstrak propolis 10%
5. K5 (Perlakuan 2): tikus diberi pakan standar, induksi luka bakar, dan gel dexpanthenol 5%.
6. K6 (Perlakuan 3): tikus diberi pakan standar, induksi luka bakar, dan gel kombinasi ekstrak propolis 5% dan dexpanthenol 2,5%.
7. K7 (Perlakuan 4): tikus diberi pakan standar, induksi luka bakar, dan gel kombinasi ekstrak propolis 10% dan dexpanthenol 5%.
8. OK1: Observasi Kelompok Sehat (K1)
9. OK2: Observasi Kelompok Kontrol Negatif (K2)
10. OK3: Observasi Kelompok Kontrol Positif (K3)
11. OK4: Observasi Kelompok Perlakuan 1 (K4)
12. OK5: Observasi Kelompok Perlakuan 2 (K5)
13. OK6: Observasi Kelompok Perlakuan 3 (K6)
14. OK7: Observasi Kelompok Perlakuan 4 (K7)

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi Subjek Penelitian

Populasi penelitian ini adalah keseluruhan subjek atau objek yang memiliki karakteristik tertentu dan menjadi sasaran penelitian. Penelitian ini menggunakan tikus Wistar yang diperoleh dari laboratorium hewan percobaan dari PT. Kemuning.²³ Tikus dipelihara dengan pakan pellet Bravo 512 dan minum berupa akuades suhu ruang. Sebelum diberi perlakuan, tikus diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari di *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL), Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang.

4.2.2 Sampel Penelitian

4.2.2.1 Kriteria Inklusi

- a) Jenis kelamin jantan sehat (gerak aktif, makan dan minum cukup, kelainan morfologi tidak tampak)
- b) Rentang usia 3–4 bulan
- c) Berat badan 180–300 gram

4.2.2.2 Kriteria Eksklusi

Tikus yang gagal diinduksi luka bakar derajat II.

4.2.2.3 Kriteria *Drop Out*

Tikus yang selama penelitian mengalami sakit atau kematian dalam masa penelitian.

4.3 Besar Sampel

Jumlah sampel dihitung menggunakan rumus Federer untuk penelitian eksperimental:⁸¹

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

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

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5$$

$$n = 4$$

Keterangan:

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

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut, jumlah minimal sampel perkelompok yang diperlukan adalah 4 ekor tikus Wistar. Namun, untuk mengantisipasi kemungkinan kehilangan sampel (*loss of sample*) selama periode penelitian, dengan rumus: $n / 1 - DO$, dimana proporsi unit eksperimen yang hilang atau drop out sebanyak 10%, maka jumlah sampel pada setiap kelompok ditambahkan satu ekor. Dengan demikian, total keseluruhan tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak 35 ekor.⁸²

4.4 Teknik Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara acak sederhana (*simple random sampling*), yaitu cara pengambilan sampel dalam populasi yang mempunyai kesempatan yang sama untuk dipilih menjadi sampel.

4.5 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.5.1 Variabel Penelitian

4.5.1.1 Variabel Bebas

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

4.5.1.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar IL-1 β dan TGF- β jaringan kulit tikus.

4.5.2 Definisi Operasional

4.5.3.1 Gel Kombinasi Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol

Ekstrak propolis diperoleh dari PT HDI yang tersedia dalam bentuk serbuk ekstrak kering (*freeze-dried extract*) dengan kandungan flavonoid tinggi dari propolis lebah sengat (*Apis mellifera*) yang diekstraksi dengan metode CMCE (*Continuous Multistage Counter-Current Extraction*) yang melibatkan kontak berulang antara dua cairan yang tidak saling bercampur yaitu campuran propolis mentah dan pelarut etanol 70%. Sementara itu, dexpanthenol digunakan dalam bentuk serbuk murni (*pharmaceutical-grade*) yang diperoleh dari MERCK. Keduanya kemudian diformulasikan ke dalam bentuk sediaan gel topikal homogen melalui proses pencampuran bertahap ke dalam basis gel yang dibuat di Laboratorium IBL hingga diperoleh tekstur yang stabil, seragam, dan mudah diaplikasikan pada kulit. Kombinasi gel dibuat dengan konsentrasi

ekstrak Propolis 5% + dexpanthenol 2,5% dan ekstrak Propolis 10% + dexpanthenol 5%. Setiap formula gel diaplikasikan secara topikal pada area luka bakar derajat II pada punggung tikus jantan galur Wistar, menggunakan dosis 200 mg, diaplikasikan 1x sehari selama 7 hari.

Satuan: mg (miligram)

Skala: Ordinal

4.5.3.2 Kadar IL-1 β

Adalah kadar IL-1 β dalam jaringan kulit tikus Wistar, baik pada tikus yang diinduksi luka bakar dan diberi perlakuan maupun tidak diinduksi dan tidak diberi perlakuan yang dinyatakan dalam satuan ng/mL yang diperiksa menggunakan metode ELISA di Laboratorium CITO Semarang pada hari ke-8 dengan Rat IL-1 β ELISA Kit.

Skala : Rasio

4.5.3.3 Kadar TGF- β

Adalah kadar TGF- β dalam jaringan kulit tikus Wistar, baik pada tikus yang diinduksi luka bakar dan diberi perlakuan maupun tidak diinduksi dan tidak diberi perlakuan yang dinyatakan dalam satuan ng/L yang diperiksa menggunakan metode ELISA di Laboratorium CITO Semarang pada hari ke-8 dengan Rat TGF- β ELISA Kit.

Skala : Rasio

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Alat

1. Kandang tikus dengan ventilasi baik
2. Tempat minum dan wadah pakan
3. Pisau cukur manual atau mesin pencukur bulu
4. Timbangan digital
5. Sarung tangan
6. Pipet Mikro
7. Tabung *Eppendorf*
8. Spektrofotometer
9. ELISA *reader*
10. Pinset
11. Freezer suhu -20°C atau -80°C
12. *Centrifuge*
13. Gelas kimia
14. *Microplate*
15. Komputer dan *software* analisis data
16. *Vortex Mixer*
17. Pisau scalpel
18. pH meter
19. Mikrotom
20. Mikroskop cahaya
21. Rak pewarnaan (*staining rack*)

22. Gelas objek (*object glass*)
23. Kaca penutup (*cover glass*)
24. Botol atau bejana pewarnaan
25. Pipet tetes
26. Oven atau inkubator (untuk mengeringkan preparat)
27. Parafin dispenser
28. Cetakan parafin (*embedding mold*)
29. Kaset jaringan (*tissue cassette*)
30. Pisau mikrotom (*microtome blade*)
31. *Hot plate*
32. *Forceps* logam halus
33. Wadah deparafinasi dan rehidrasi (xylena & alkohol bertingkat)
34. *Cover slip mounting tool*
35. Lem perekat kaca objek (poly-L-lysine atau sejenisnya)

4.6.2 Bahan

1. 35 ekor tikus Wistar jantan
2. Pakan standar Tikus Bravo 512
3. Krim Depolatori Komersial (VEET®)
4. Ekstrak propolis lebah sengat (*Apis mellifera*) dari *Health and Happiness International* (HDI) dengan merk Propoelix®
5. Dexpanthenol produk dari Mercks
6. Basis gel yang dibuat di laboratorium IBL.
7. Silver sulfadiazine 1%

8. *Rat ELISA kit reagen* IL-1 β (BTLab $\text{\textcircled{R}}$, Shanghai, China)
9. *Rat ELISA kit reagen* TGF- β (BTLab $\text{\textcircled{R}}$, Shanghai, China)
10. Larutan Formalin 10%
11. Parafin cair
12. Xylena
13. Alkohol (100%, 95% dan 70%)
14. Pewarna hematoksin dan eosin
15. Alkohol Asam 1%
16. Larutan Amonia 0,2%
17. Aquades
18. Media perekat berbasis xylena

4.7 Prosedur Penelitian dan Alur Kerja

4.7.1 Perolehan *Ethical Clearance*

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

4.7.2 Ekstrak Propolis dan Dexanthenol

Penelitian ini menggunakan ekstrak propolis lebah sengat (*Apis mellifera*) yang diperoleh dari *Health and Happiness International* (HDI) dengan kualitas bermutu tinggi, disertai COA dan kemurnian 100%, sedangkan dexpanthenol diperoleh dari MERCK, berbentuk serbuk murni 100%, untuk memastikan konsistensi kualitas dan kandungan bahan aktif, meningkatkan efisiensi waktu, serta menjamin standar keamanan dan kemurnian yang telah diverifikasi oleh produsen.

Ekstrak propolis yang digunakan diperoleh melalui proses ekstraksi cair-cair (*liquid-liquid extraction*) menggunakan sistem *Continuous Multistage Counter-Current Extraction* (CMCE). Metode ini dipilih karena mampu menghasilkan ekstrak dengan kandungan senyawa bioaktif tinggi dan tingkat kemurnian lebih baik dibandingkan metode konvensional. Proses CMCE melibatkan kontak berulang antara dua cairan yang tidak saling bercampur, yaitu campuran awal yang mengandung propolis mentah dan pelarut etanol 70%. Kedua fase tersebut dialirkan secara berlawanan arah (*counter-current*) melalui beberapa tahap (*multistage*), sehingga terjadi perpindahan massa yang optimal dari zat aktif dalam propolis menuju fase pelarut. Tahap ini bertujuan untuk memaksimalkan ekstraksi senyawa polar dan semi-polar seperti flavonoid, *caffeic acid phenethyl ester* (CAPE), asam sinamat, dan asam ferulat yang terkandung dalam propolis. Setiap tahap ekstraksi dianggap sebagai tahap kesetimbangan ideal, di mana terjadi pemisahan antara dua fase utama: rafinat, yaitu fase yang telah diekstraksi dan mengandung residu tidak larut, serta ekstrak, yaitu fase pelarut yang membawa senyawa bioaktif terlarut dari propolis. Proses ekstraksi diulang beberapa kali hingga diperoleh hasil yang optimal. Setelah proses selesai, larutan ekstrak disaring menggunakan kertas saring halus, kemudian dilakukan evaporasi pelarut pada suhu rendah ($\pm 40^{\circ}\text{C}$) menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian dikeringkan hingga menjadi serbuk (*powder extract*) yang siap diformulasikan ke dalam sediaan gel topikal.

4.7.3 Penetapan Konsentrasi Ekstrak

Penentuan dosis topikal ekstrak propolis dan dexpanthenol dalam penelitian ini didasarkan pada hasil kajian literatur sebelumnya. Beberapa studi melaporkan bahwa penggunaan ekstrak propolis pada konsentrasi 5% dan 10% secara topikal mampu memberikan efek penyembuhan sehingga menegaskan potensi terapeutik kedua konsentrasi tersebut dalam mendukung proses regenerasi jaringan pada luka bakar.⁵

Selain itu, penelitian terdahulu menunjukkan bahwa aplikasi panthenol 2,5% dalam bentuk krim atau losion topikal, diberikan dua kali sehari selama tujuh hari, secara signifikan meningkatkan hidrasi stratum corneum serta menurunkan kehilangan air transepidermal (TEWL) dibandingkan kontrol plasebo. Berdasarkan temuan tersebut, penelitian ini menggunakan dexpanthenol pada konsentrasi 2,5% dan 5% untuk mengevaluasi perbedaan efektivitasnya dalam penyembuhan luka bakar pada hewan uji.¹⁹

Pada penelitian ini, gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol diaplikasikan secara topikal pada model *in vivo* luka bakar derajat II dengan dosis 200 mg sekali sehari selama 7 hari.

4.7.4 Formulasi Gel Kombinasi Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol

Pembuatan gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol dengan cara menambahkan basis gel dengan ekstrak propolis dan dexpanthenol dalam konsentrasi sesuai formulasi. Formula dan komposisi sediaan gel pada tabel 4.1 terdiri dari beberapa variasi, yaitu F1 (K4) yang merupakan propolis tunggal 10% dengan kandungan 10 g propolis powder dan 90 g basis gel sehingga total

100 g; F2 (K5) yaitu dexpanthenol tunggal 5% yang mengandung 5 g dexpanthenol powder dan 95 g basis gel dengan total 100 g; F3 (K6) sebagai kombinasi pertama yang terdiri atas propolis 5% sebanyak 5 g dan dexpanthenol 2,5% sebanyak 2,5 g serta 92,5 g basis gel sehingga total menjadi 100 g; serta F4 (K7) sebagai kombinasi kedua yang mengandung propolis 10% sebanyak 10 g dan dexpanthenol 5% sebanyak 5 g dengan tambahan 85 g basis gel sehingga total keseluruhan mencapai 100 g.

Tabel 4.1 Formulasi Gel Kombinasi Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol

Bahan	F1	F2	F3	F4
<i>Base gel</i>	Ad	Ad	Ad	Ad
	100%	100%	100%	100%
Ekstrak Propolis	10%	-	5%	10%
Dexpanthenol	-	5%	2,5%	5%

Keterangan:

F= Formula

4.7.5 Prosedur Pembuatan Gel Kombinasi Ekstrak Propolis dan Dexpanthenol

1. Pembuatan Basis Gel

Pembuatan basis gel dilakukan dengan menggunakan bahan dasar HPMC 2,5 g yang dilarutkan dalam air panas sambil diaduk hingga mengembang sempurna. Setelah itu ditambahkan larutan pengawet yang mengandung propil paraben 0,02 g dan metil paraben 0,18 g, kemudian dilanjutkan dengan penambahan propilen glikol 10 g, parafin cair 5 g, dan Tween 80

sebanyak 1,08 g. Seluruh bahan diaduk hingga homogen dan membentuk basis gel yang bening dan stabil. Basis ini berfungsi sebagai media pembawa bahan aktif pada sediaan topikal.

2. Persiapan Bahan

- Siapkan *base gel* yang mengandung bahan-bahan pendukung formulasi topikal.
- Siapkan ekstrak propolis dan dexpanthenol dengan variasi konsentrasi sesuai kelompok perlakuan:
 - K4: ekstrak propolis 10%
 - K5: dexpanthenol 5%
 - K6: kombinasi ekstrak propolis 10% dan dexpanthenol 5%
 - K7: kombinasi ekstrak propolis 5% dan dexpanthenol 2,5%

3. Penimbangan Bahan

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

4. Pencampuran Gel

Semua bahan aktif dalam bentuk serbuk murni 100% dicampurkan secara langsung ke dalam basis gel menggunakan mortir. Pencampuran dilakukan secara bertahap dengan melakukan pengadukan hingga homogen. Proses homogenisasi dilanjutkan sampai tidak terlihat adanya penggumpalan, perbedaan warna, atau butiran serbuk yang terdispersi

tidak merata. Homogenitas sediaan dipastikan secara visual sesuai Farmakope Indonesia Ed IV, yaitu dengan mengamati keseragaman penampilan pada beberapa sampel, serta memastikan konsistensi dan distribusi bahan aktif merata di seluruh massa gel kemudian harus dipastikan bahwa pH sediaan berada pada rentang 5,5–6,5. Pencampuran dinyatakan selesai apabila sediaan menunjukkan tekstur halus, seragam, dan stabil.⁸³

5. Pendinginan

Setelah pencampuran selesai, biarkan gel pada suhu ruang hingga stabil.

6. Pengemasan Gel

Masukkan gel yang telah homogen ke dalam wadah steril (misalnya tube atau pot gel) menggunakan spatula stainless steel.

7. Penyimpanan

Simpan sediaan gel di tempat yang sejuk dan kering, jauh dari paparan sinar matahari langsung.

4.7.6 Persiapan Sebelum Perlakuan

1. Sebanyak 35 ekor tikus jantan galur Wistar diaklimatisasi di Laboratorium IBL FK Unissula Semarang
2. Tikus diberi pakan standar Bravo 512 yang mengandung protein kasar 19,5–21,5%, lemak kasar minimal 5%, serat kasar maksimal 5%, dan air maksimal 12%, dengan tambahan kalsium 0,9–1,1% serta fosfor 0,6–0,9%.⁸⁴

4.7.7 Induksi Luka Bakar Derajat II

4.7.7.1 Pembuatan Model Luka Bakar Derajat II

Tikus diaklimatisasi selama 7 hari pada kondisi laboratorium sebelum dilakukan percobaan, kemudian ditimbang dan dianestesi menggunakan ketamin (75 mg/kg) secara intramuskular. Area punggung dicukur menggunakan alat cukur listrik, dibersihkan dengan krim depilatori (VEET), dan diberi penandaan sesuai diameter alat induksi. Induksi luka bakar derajat II dilakukan menggunakan kepala batang aluminium berdiameter 20 mm yang dipanaskan hingga mencapai suhu 75°C selama 10 detik. Proses pembuatan luka dilakukan dengan jeda 5 menit antar hewan untuk menjaga kestabilan suhu kepala batang aluminium.²³

Sebelum kepala batang aluminium ditempelkan pada setiap ekor tikus, suhu permukaan logam wajib diperiksa ulang menggunakan alat pengukur suhu inframerah untuk memastikan suhu tetap berada pada 75°C, sehingga konsistensi tingkat keparahan luka terjaga. Setelah suhu terkonfirmasi, kepala batang aluminium panas ditempelkan pada area punggung tikus yang berada dalam kondisi anestesi penuh selama 10 detik tanpa tekanan tambahan, kemudian diangkat dan luka diamati untuk memastikan karakteristik luka bakar derajat II. Pengaturan suhu yang terstandarisasi dan pengecekan suhu pada setiap tikus sebelum induksi memastikan terbentuknya luka bakar derajat II yang seragam pada seluruh sampel penelitian.²³

4.7.7.2 Validasi Makroskopis Luka Bakar Derajat II

Validasi makroskopis dilakukan dengan pengamatan secara langsung pada area luka bakar pada setiap tikus menggunakan kamera digital pascainduksi luka. Sebuah penggaris diletakkan di tepi luka sebagai acuan skala untuk mengonversi ukuran piksel, sehingga memungkinkan perhitungan luas luka secara akurat menggunakan perangkat lunak ImageJ versi 1.49v. Gambaran makroskopis luka bakar derajat II umumnya ditandai oleh munculnya edema di permukaan kulit dan pada bagian kulit yang terpapar panas tampak mengalami perubahan warna menjadi pucat sebagai tanda koagulasi protein kulit dan kerusakan vaskular di bagian dermis. Selain itu, integritas epidermis tampak menurun, dengan permukaan kulit yang lembek, mengilap, dan mudah terkelupas. Rambut halus sisa pencukuran di area luka terlihat terbakar atau rusak. Selama periode observasi, perubahan makroskopis luka meliputi morfologi umum, perubahan ukuran, serta waktu pembentukan dan pelepasan krusta diamati secara sistematis untuk mengevaluasi dinamika proses penyembuhan luka. Induksi luka bakar derajat II dinyatakan berhasil apabila pada hari pertama mulai tampak krusta awal biasanya di tepi luka, luka tetap tampak kering dan pucat menandakan fase inflamasi akut sedang berlangsung dan eksudat mulai mengering membentuk krusta.²³

4.7.7.3 Analisis Mikroskopis dengan Metode Pewarnaan H&E

Analisis mikroskopis dilakukan menggunakan metode pewarnaan *Hematoksilin-Eosin* (H&E) pada jaringan kulit tikus yang telah dieutanasia. Analisis ini dilakukan pada penelitian pendahuluan yang bertujuan untuk memastikan bahwa metode induksi yang digunakan mampu menghasilkan model luka bakar derajat II sesuai dengan kriteria yang ditetapkan dengan menggunakan enam ekor tikus yang dibagi menjadi dua kelompok, yaitu tiga ekor tikus kelompok normal dan tiga ekor tikus dengan induksi luka bakar derajat II. Sampel jaringan luka difiksasi dalam larutan formalin 10%, kemudian dibenamkan dalam parafin cair, dipotong setebal 5 μm , dan dikeringkan pada suhu ruang selama satu hari. Selanjutnya, preparat dibersihkan dua kali dengan xylena, kemudian direhidrasi bertahap menggunakan alkohol dengan konsentrasi menurun (100%, 95%, dan 70%). Setelah dibilas dengan air, jaringan diwarnai hematoxilin selama 8 menit, dibilas kembali dengan air mengalir, lalu direndam dalam alkohol asam 1% selama 30 detik dan dinetralkan dengan larutan amonia 0,2%. Pewarnaan dilanjutkan dengan eosin selama 30 detik hingga 1 menit, kemudian preparat didehidrasi ulang menggunakan alkohol bertingkat (95%–100%), dibersihkan kembali dengan *xylena*, dan ditutup dengan media perekat berbasis *xylena*. Pengamatan histologis dilakukan di bawah mikroskop cahaya untuk menilai perubahan struktur jaringan kulit menunjukkan bahwa seluruh lapisan epidermis mengalami destruksi total, lapisan dermis

mengalami kerusakan yang luas terlihat serabut kolagen menjadi tidak teratur, folikel rambut dan kelenjar keringat mengalami degenerasi. Secara histologis, penelitian ini diharapkan menunjukkan penurunan infiltrasi sel inflamasi, peningkatan reepitelisasi, angiogenesis, dan deposisi kolagen yang mencerminkan perbaikan struktur jaringan pada kelompok pemberian gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol.²³

4.7.8 Pemberian Perlakuan

Gel ekstrak propolis dan dexpanthenol dioleskan pada luka bakar satu kali sehari selama 7 hari. Pada hari ke-8, tikus dieutanasia sampel jaringan kulit diambil.²⁶ Pemilihan hari ke-7 didasarkan pada pertimbangan fase biologis penyembuhan luka, di mana sitokin proinflamasi seperti IL-1 β dilaporkan masih berada pada kadar tinggi, sementara ekspresi TGF- β mulai meningkat untuk menstimulasi proliferasi fibroblas, angiogenesis, dan pembentukan jaringan granulasi. Kondisi ini merepresentasikan fase transisi kritis dari inflamasi menuju proliferasi, sehingga menjadi waktu yang tepat untuk mengevaluasi pengaruh terapi topikal terhadap regulasi biomarker penyembuhan luka bakar.^{85,86}

4.7.9 Pengambilan Sampel Jaringan Kulit Tikus

Jaringan kulit diambil dari area luka tikus seluas 2x2 cm yang telah dianestesi dan dieutanasia sesuai protokol etis menggunakan gunting dan pinset steril, kemudian dicuci PBS dingin (pH 7,4) untuk menghilangkan darah berlebih, lalu ditimbang sebelum dihomogenisasi. Jaringan dipotong kecil dan dihomogenisasi dalam PBS dengan perbandingan bobot jaringan

(g) : volume PBS (mL) = 1:9 menggunakan *homogenizer* kaca di atas es. Untuk menghancurkan sel lebih lanjut, suspensi dapat disonikasi menggunakan *ultrasonic cell disrupter* atau melalui siklus beku-cair. Homogenat kemudian disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C untuk mendapatkan supernatan. Sampel yang akan digunakan dalam ≤5 hari disimpan pada suhu 2–8 °C, sedangkan untuk penyimpanan lebih lama harus dialikuot dan disimpan pada suhu -20 °C (≤1 bulan) atau -80 °C (≤3 bulan). Hindari siklus beku-cair berulang karena dapat merusak integritas sampel. Sebelum pemeriksaan, sampel dibawa ke suhu ruang dan disentrifugasi ulang jika terbentuk endapan selama penyimpanan. Selain itu, hemolisis harus dihindari karena dapat memengaruhi validitas hasil pemeriksaan.⁸⁷

4.7.10 Pemeriksaan kadar IL-1 β dan TGF- β menggunakan Metode ELISA

Pemeriksaan kadar IL-1 β dan TGF- β dalam jaringan kulit dilakukan menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Teknik ini berbasis reaksi antigen-antibodi yang spesifik untuk mendeteksi konsentrasi IL-1 β dan TGF- β dalam sampel biologis, seperti jaringan kulit.⁸⁸

1. Persiapan

Siapkan semua reagen, larutan standar, dan sampel sesuai petunjuk. Biarkan mencapai suhu ruang sebelum digunakan. Seluruh uji dilakukan pada suhu ruang.

2. Pelapisan Plate ELISA

Plate ELISA dilapisi dengan antibodi primer spesifik untuk IL-1 β dan TGF- β dan diinkubasi sesuai protokol kit ELISA.

3. Penambahan Sampel

Supernatan hasil ekstraksi jaringan kulit ditambahkan ke dalam plate ELISA bersama larutan standar IL-1 β dan TGF- β untuk pembuatan kurva standar.

4. Inkubasi

Plate diinkubasi pada suhu tertentu (suhu kamar atau 37°C) sesuai protokol kit ELISA untuk memastikan interaksi optimal antara antibodi dan protein target.

5. Reaksi Substrat

Substrat enzim (misalnya TMB, 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine) ditambahkan untuk memulai reaksi warna. Intensitas warna yang terbentuk menunjukkan kadar IL-1 β dan TGF- β dalam sampel.⁸⁹

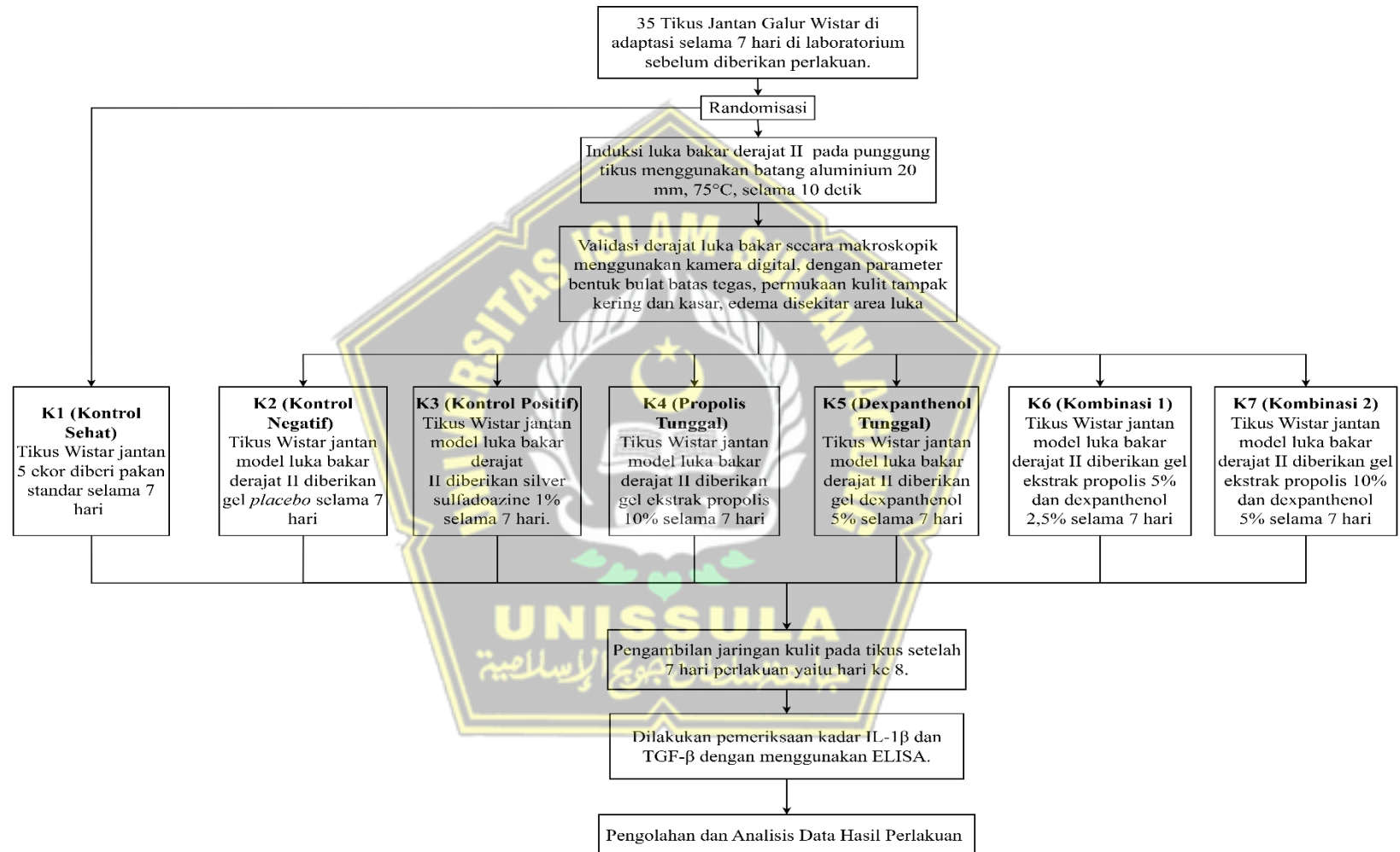
6. Pembacaan Absorbansi

Warna yang terbentuk di setiap sumur plate ELISA diukur menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 450 nm.

7. Penentuan Kadar IL-1 β dan TGF- β

- Data absorbansi dibandingkan dengan kurva standar untuk menentukan konsentrasi IL-1 β dan TGF- β dalam jaringan kulit.
- Hasil analisis dibandingkan antar kelompok perlakuan untuk mengevaluasi pengaruh gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol terhadap kadar IL-1 β dan TGF- β .

4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur Penelitian

4.9 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL), Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang dan pemeriksaan kadar IL-1 β dan TGF- β menggunakan ELISA dilakukan di Laboratorium CITO Semarang pada bulan Desember 2025. Analisis data, pembuatan laporan atau penyusunan naskah dilakukan di PSMIB.

4.10 Analisis Data

Data penelitian dianalisis menggunakan perangkat lunak SPSS. Uji normalitas distribusi data dilakukan menggunakan uji *Shapiro–Wilk*, dengan kriteria data dinyatakan berdistribusi normal pada nilai $p > 0,05$. Uji homogenitas varians antar kelompok dilakukan menggunakan uji *Levene's Test*, dengan kriteria varians dinyatakan homogen pada nilai.

Hasil analisis menunjukkan bahwa data kadar IL-1 β terdistribusi normal dan memiliki varians yang homogen ($p > 0,05$). Oleh karena itu, analisis perbedaan rerata antar kelompok dilakukan menggunakan uji *One Way ANOVA*, dan analisis dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* untuk mengidentifikasi perbedaan antar pasangan kelompok. Data kadar TGF- β terdapat data yang tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$), namun memiliki varians data yang homogen ($p > 0,05$). Berdasarkan hasil tersebut, analisis perbedaan antar kelompok untuk variabel TGF- β dilakukan menggunakan uji nonparametrik *Kruskal–Wallis*, dan analisis dilanjutkan dengan uji *Mann–Whitney* untuk mengevaluasi perbedaan antar kelompok secara berpasangan.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol terhadap kadar *Interleukin-1 β* (IL-1 β) dan *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β) pada jaringan kulit tikus jantan galur Wistar dengan model luka bakar derajat II. Penelitian ini dilakukan selama 14 hari meliputi masa adaptasi, induksi luka bakar, pemberian perlakuan, dan pengambilan sampel jaringan kulit. Sebanyak 35 ekor tikus jantan galur Wistar digunakan sebagai hewan uji yang diaklimatisasi selama 7 hari di Laboratorium *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang sebelum diberikan perlakuan. Setelah masa aklimatisasi, tikus diacak dan dibagi menjadi tujuh kelompok penelitian.

Induksi luka bakar derajat II dilakukan pada area punggung tikus menggunakan kepala batang aluminium 20 mm yang dipanaskan hingga suhu 75°C dan ditempelkan selama 10 detik pada punggung tikus dalam kondisi anestesi sehingga terbentuk luka bakar derajat II (*partial-thickness*) yang melibatkan epidermis dan sebagian dermis. Selama periode penelitian, seluruh hewan coba berada dalam kondisi sehat dan tidak terdapat tikus yang mengalami kematian maupun sakit (*drop out*) hingga akhir penelitian.

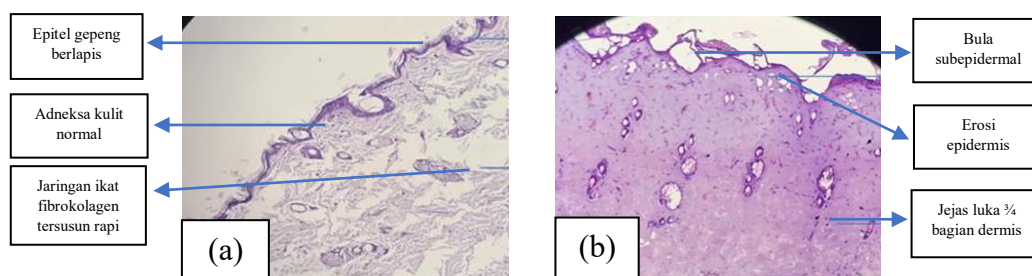
Kelompok K1 (kontrol sehat) merupakan tikus sehat yang diberi pakan standar dan *aquades ad libitum*. Kelompok K2 (kontrol negatif) merupakan tikus yang diinduksi luka bakar derajat II yang diberi pakan standar serta diberi *base gel*

selama 7 hari pada punggung tikus. Kelompok K3 (kontrol positif) merupakan tikus model luka bakar derajat II yang diberi pakan standar dan diolesi silver sulfadiazine 1%. Kelompok K4 mendapatkan gel ekstrak propolis 10%, sedangkan kelompok K5 mendapatkan gel dexpanthenol 5%. Kelompok K6 diberikan gel kombinasi ekstrak propolis 5% dan dexpanthenol 2,5%, sementara kelompok K7 diberikan gel kombinasi ekstrak propolis 10% dan dexpanthenol 5%. Seluruh perlakuan topikal diberikan satu kali sehari selama 7 hari.

Pada hari ke-8 setelah perlakuan, tikus dieutanasia sesuai protokol etik dan dilakukan pengambilan jaringan kulit dari area luka bakar yang dimasukkan ke tabung konikal berisi PBS steril untuk dilakukan pemeriksaan kadar IL-1 β dan TGF- β menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Data hasil pemeriksaan kadar IL-1 β dan TGF- β selanjutnya dianalisis untuk menilai pengaruh pemberian gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol terhadap modulasi respon inflamasi dan fase proliferasi pada proses penyembuhan luka bakar derajat II.

5.1.1 Penelitian Pendahuluan Model Luka Bakar pada Tikus

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk memastikan keberhasilan metode induksi luka bakar derajat II pada tikus melalui pengamatan makroskopik dan mikroskopik menggunakan pewarnaan *Hematoksilin-Eosin* (H&E) untuk menilai perubahan histologis jaringan kulit dengan melibatkan enam ekor tikus yang dibagi menjadi dua kelompok, yaitu tiga ekor tikus tanpa induksi luka bakar dan tiga ekor tikus diberikan perlakuan induksi luka bakar derajat II. Hasil pengamatan histopatologis ditampilkan pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1.

Gambar 5.1 Hasil Pemeriksaan Histologi pada Kulit Normal dan Luka Bakar Derajat II dengan Pewarnaan *Hematoksin-Eosin* (a) Kulit tikus tanpa induksi luka bakar menunjukkan epidermis dan dermis dalam kondisi normal dengan struktur jaringan yang utuh; (b) Kulit tikus dengan luka bakar derajat II memperlihatkan erosi epidermis, pembentukan bula subepidermal, serta jejas luka yang meluas hingga sekitar tiga perempat lapisan dermis.

Gambar 5.1(a) memperlihatkan gambaran histopatologis jaringan kulit punggung tikus normal dengan struktur fisiologis yang masih utuh. Lapisan epidermis tampak tersusun atas epitel gepeng berlapis tanpa adanya tanda erosi atau kerusakan, serta adnexa kulit masih terlihat jelas. Lapisan dermis menunjukkan susunan jaringan ikat fibrokollagen dan jaringan muskularis yang terorganisasi dengan baik dan berada dalam batas normal. Gambar 5.1 (b) menunjukkan gambaran histopatologis jaringan kulit punggung tikus dengan luka bakar derajat II, yang ditandai oleh erosi epidermis hingga hilangnya sebagian lapisan epitel gepeng berlapis, disertai perdarahan pada dermis superfisial serta tidak tampaknya adneksa kulit. Pada beberapa area terlihat pemisahan antara epidermis dan dermis yang membentuk vesikel atau bula subepidermal secara mikroskopis. Jejas luka tampak meluas hingga sekitar tiga perempat lapisan dermis, disertai disorganisasi jaringan ikat, yang mencerminkan karakteristik khas cedera termal pada luka bakar derajat II.

Perubahan histopatologis tersebut mencerminkan karakteristik khas luka bakar derajat II, yaitu kerusakan struktural pada epidermis hingga sebagian besar lapisan dermis. Kerusakan ini menyebabkan terganggunya fungsi protektif dan homeostasis kulit, yang selanjutnya memicu respons inflamasi lokal serta aktivasi proses penyembuhan jaringan. Hilangnya kontinuitas epidermis yang disertai perdarahan dan pembentukan bula menunjukkan adanya cedera termal yang signifikan pada jaringan penunjang kulit.

Penelitian pendahuluan juga dilakukan secara makroskopik melalui pengamatan visual langsung terhadap perubahan morfologi pada permukaan kulit punggung tikus. Pengamatan ini meliputi perubahan warna, tekstur, dan integritas jaringan untuk membedakan karakteristik kulit normal dengan kulit yang mengalami luka bakar. Hasil pengamatan makroskopik disajikan pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2 Gambaran makroskopik jaringan kulit tikus: (a) Kulit normal; (b) Kulit tikus dengan induksi luka bakar derajat II.

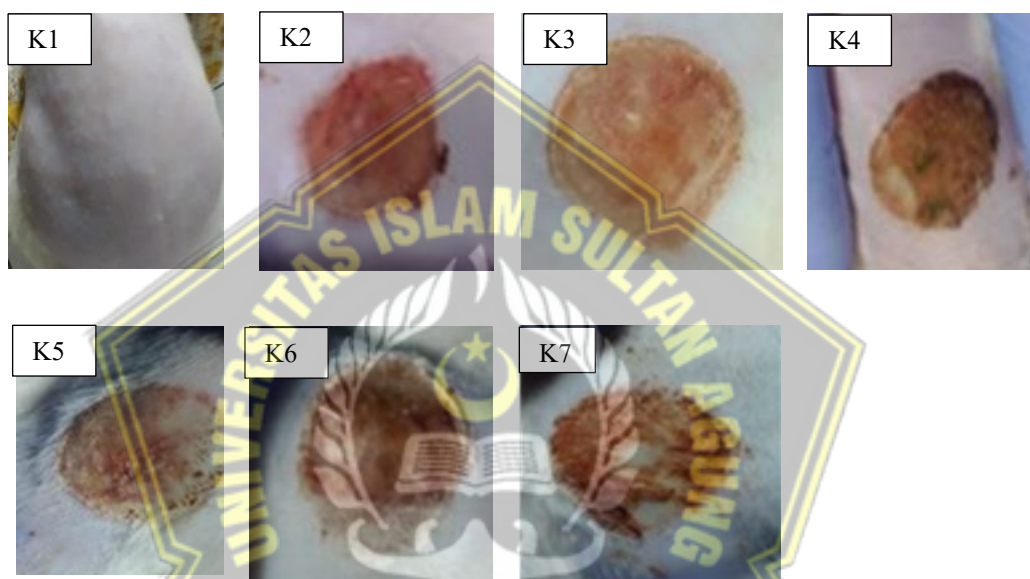
Gambar 5.2(a) menunjukkan jaringan kulit normal dengan permukaan yang halus dan homogen, berwarna merah muda pucat, serta memiliki integritas jaringan yang baik tanpa adanya tanda kerusakan struktural. Gambar 5.2(b) memperlihatkan perubahan makroskopik yang jelas pada kulit pascainduksi

luka bakar ditandai dengan terbentuknya lesi berbentuk bulat dengan batas yang tegas berwarna putih, yang merupakan tanda akibat cedera luka bakar. Permukaan kulit pada area luka tampak kering dan kasar yang mencerminkan terjadinya koagulasi protein pada lapisan epidermis akibat paparan panas. Terdapat edema atau pembengkakan disekitar area luka yang terjadi akibat peningkatan permeabilitas pembuluh darah, memungkinkan cairan keluar ke jaringan sekitarnya. Edema yang terlihat menunjukkan reaksi inflamasi akut yang biasa terjadi segera setelah luka bakar. Tidak ditemukan lepuhan yang terbentuk pada luka.

Karakteristik perubahan makroskopik tersebut menunjukkan adanya kerusakan jaringan yang melibatkan lapisan epidermis hingga sebagian dermis, yang merupakan ciri khas luka bakar derajat II. Induksi luka bakar menggunakan kepala batang aluminium berdiameter 20 mm yang dipanaskan terbukti mampu menghasilkan cedera termal yang konsisten dan menyerupai luka bakar derajat II. Ini berhubungan dengan aktivasi respons inflamasi yang ditandai oleh peningkatan kadar IL-1 β sebagai mediator inflamasi proinflamasi, serta perubahan ekspresi TGF- β yang berperan dalam regulasi fase proliferasi dan remodeling jaringan. Disregulasi kedua biomarker tersebut mencerminkan keterlibatan inflamasi dan perbaikan jaringan dalam patofisiologi luka bakar derajat II, sehingga model ini dinilai relevan untuk mengevaluasi proses penyembuhan luka dan efektivitas intervensi terapeutik.

5.1.2 Validasi Makroskopis pada Model Luka Bakar

Validasi makroskopik model luka bakar dilakukan melalui pengamatan langsung terhadap perubahan morfologi kulit pada area induksi luka untuk memastikan kesesuaian tingkat keparahan cedera yang dihasilkan. Hasil validasi makroskopik luka bakar derajat II disajikan pada Gambar 5.3.



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

Gambar 5.3 menunjukkan perbandingan kondisi luka bakar pada hari ke-7 setelah pengolesan gel pada masing-masing kelompok. Pada kelompok kontrol sehat (K1), luka bakar yang diinduksi tidak tampak mengalami perubahan signifikan, dengan permukaan kulit yang tetap utuh dan warna yang normal. Tidak ada tanda-tanda inflamasi, pembengkakan, atau kerusakan jaringan,

yang mencerminkan kondisi kulit yang tidak terpengaruh oleh cedera termal. Hal ini menunjukkan bahwa pada kelompok yang tidak diinduksi luka bakar, integritas kulit tetap terjaga dengan baik, menggambarkan kondisi kulit fisiologis yang sehat.

Kelompok kontrol negatif (K2) yang hanya diberi luka bakar derajat II tanpa pengobatan menunjukkan kondisi luka yang lebih parah. Lesi luka bakar tampak lebih besar dengan perubahan warna kulit yang lebih gelap dan permukaan yang kering serta mengeras. Pembentukan krusta tipis terlihat di sebagian besar area luka, mencerminkan fase inflamasi yang sedang berlangsung. Kerusakan jaringan melibatkan lapisan epidermis hingga dermis, yang disertai dengan penurunan integritas epidermis, yang memperburuk penyembuhan luka. Pada kelompok ini, tidak ada intervensi terapeutik yang diberikan, sehingga luka bakar tetap berada pada fase inflamasi tanpa menunjukkan tanda-tanda regenerasi jaringan yang signifikan.

Pada kelompok K3 yang diberi silver sulfadiazine 1%, luka menunjukkan beberapa tanda perbaikan. Gel silver sulfadiazine bekerja lebih sebagai agen antimikroba untuk mencegah infeksi pada luka bakar, namun belum memberikan efek yang signifikan pada proses regenerasi jaringan. Area luka masih tampak jelas dengan pembentukan krusta di sebagian besar permukaan luka. Penggunaan silver sulfadiazine tidak menunjukkan perubahan warna yang signifikan, meskipun beberapa tanda-tanda penyembuhan sudah terlihat, seperti penurunan nekrosis jaringan. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun silver sulfadiazine efektif dalam mengurangi infeksi, kemampuan

regeneratifnya terbatas jika dibandingkan dengan pengobatan lain yang lebih berfokus pada proses penyembuhan jaringan.

Pada kelompok K4 yang diberi ekstrak propolis 10%, luka masih menunjukkan tanda-tanda peradangan. Warna keseluruhan luka tetap merah, tepi luka kecokelatan, dan terdapat satu area yang agak basah, menunjukkan bahwa regenerasi jaringan belum optimal. Beberapa bagian krusta mulai menipis, namun perbaikan keseluruhan masih terbatas. Kelompok K5 yang menerima dexpanthenol 5%, luka tampak lebih kering dan warna merah mulai memudar. Batas tepi luka tidak terlalu tegas lagi, menandakan awal proses re-epitelialisasi. Permukaan luka lebih rata dibanding K4, tetapi masih terlihat area yang belum pulih sepenuhnya.

Pada kelompok K6 (propolis 5% + dexpanthenol 2,5%), luka kering dengan permukaan yang menebal. Sebagian area mulai berwarna menyerupai kulit normal, menandakan proses re-epitelialisasi dan regenerasi jaringan yang lebih jelas dibanding perlakuan tunggal. Sementara itu, kelompok K7 (propolis 10% + dexpanthenol 5%) menunjukkan luka yang sangat kering dengan tekstur kasar, meskipun sebagian area sudah mulai berwarna menyerupai kulit normal. Krusta mulai menipis dan beberapa bagian tampak seperti warna kulit normal, menandakan bahwa proses penyembuhan sedang berjalan meskipun luka belum sepenuhnya pulih.

5.1.3 Hasil Pemeriksaan Kadar IL-1 β pada Jaringan Kulit

Hasil analisis ELISA kadar *Interleukin-1 β* (IL-1 β) pada jaringan kulit tikus menunjukkan bahwa rerata kadar IL-1 β tertinggi terdapat pada kelompok K2 ($18,50 \pm 0,32$ ng/mL). Nilai rerata selanjutnya berturut-turut ditemukan pada kelompok K4 ($17,76 \pm 0,53$ ng/mL), kelompok K3 ($17,24 \pm 0,41$ ng/mL), kelompok K6 ($16,94 \pm 0,51$ ng/mL), kelompok K7 ($16,85 \pm 0,25$ ng/mL), dan kelompok K5 ($16,26 \pm 0,38$ ng/mL). Rerata kadar IL-1 β terendah ditemukan pada kelompok K1 ($10,10 \pm 0,13$ ng/mL) (Tabel 5.1).

Uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data kadar IL-1 β pada seluruh kelompok penelitian terdistribusi normal dengan nilai $p > 0,05$ pada masing-masing kelompok, yaitu K1 ($p = 0,119$), K2 ($p = 0,314$), K3 ($p = 0,257$), K4 ($p = 0,809$), K5 ($p = 0,346$), K6 ($p = 0,613$), dan K7 ($p = 0,111$). Uji homogenitas varians menggunakan *Levene's Test* menunjukkan nilai $p = 0,121$ ($p > 0,05$), yang menandakan bahwa varians data antar kelompok bersifat homogen.

Analisis statistik menggunakan uji *One Way ANOVA* menunjukkan nilai $p < 0,001$ ($p < 0,05$), yang mengindikasikan adanya perbedaan bermakna kadar IL-1 β antar kelompok penelitian. Hasil analisis yang signifikan menjadi dasar dilakukannya uji lanjutan *Post Hoc Tukey* guna mengetahui perbedaan kadar IL-1 β secara spesifik antar masing-masing kelompok penelitian. Hasil disajikan dalam Tabel 5.1 dan gambar 5.4.

Tabel 5.1 Hasil Pemeriksaan Kadar IL-1 β , Uji *Shapiro Wilk*, *Levene's Test* dan *One Way ANOVA*

Variabel	Kelompok							<i>p value</i>
	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	
Kadar IL-1β (ng/mL)	10,10 $\pm$ 0,13	18,50 $\pm$ 0,32	17,24 $\pm$ 0,41	17,76 $\pm$ 0,53	16,26 $\pm$ 0,38	16,94 $\pm$ 0,51	16,80 $\pm$ 0,25	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0.119*	0.314*	0.257*	0.809*	0.346*	0.613*	0.111*	
<i>Levene's Test</i>								0.121 ^a
<i>One Way ANOVA</i>								<0.001 ^b

Keterangan: K1 (kontrol sehat), K2 (kontrol negatif; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan base gel), K3 (kontrol positif; tikus yang diinduksi luka bakar dan diberikan silver sulfadiazine 1%), K4 (perlakuan 1; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel propolis 10%), K5 (perlakuan 2; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel dexpanthenol 5%), K6 (perlakuan 3; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel kombinasi propolis 5% + dexpanthenol 2,5%), K7 (perlakuan 4; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel kombinasi propolis 10% + dexpanthenol 5%). *: data terdistribusi normal $p \geq 0,050$, ^a: data terdistribusi homogen $p \geq 0,050$
^b: terdapat perbedaan bermakna $p < 0,050$.

Tabel 5.2 menunjukkan hasil uji *Post Hoc Tukey* terhadap kadar *Interleukin-1 β* (IL-1 β) pada jaringan kulit tikus. Perbedaan bermakna ditemukan antara kelompok K1 (kontrol sehat) dengan kelompok K2 (kontrol negatif), K3 (kontrol positif), K4 (perlakuan gel ekstrak propolis 10%), K5 (perlakuan gel dexpanthenol 5%), K6 (perlakuan gel kombinasi ekstrak propolis 5% dan dexpanthenol 2,5%), serta K7 (perlakuan gel kombinasi ekstrak propolis 10% dan dexpanthenol 5%) dengan nilai $p < 0,001$. Temuan ini menunjukkan bahwa kadar IL-1 β pada kelompok K1 secara signifikan lebih rendah dibandingkan dengan seluruh kelompok yang mengalami induksi luka bakar derajat II.

Perbedaan bermakna juga ditemukan antara kelompok K2 (kontrol negatif) dengan kelompok K5 (perlakuan gel dexpanthenol 5%) dengan nilai $p=0,005$ ($p<0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian gel dexpanthenol 5% mampu menurunkan kadar IL-1 β secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan base gel.

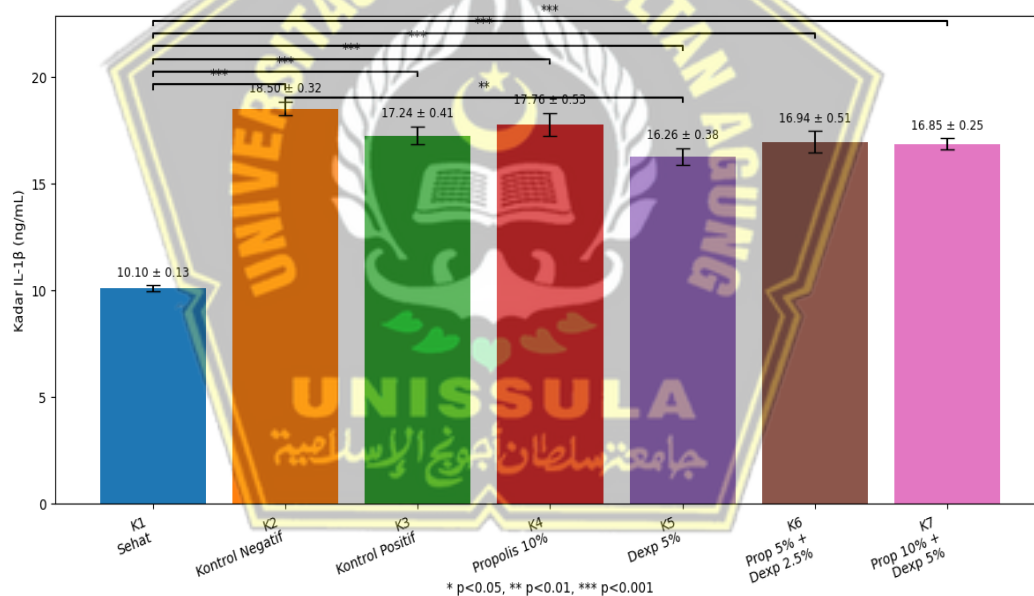
Tidak ditemukan perbedaan bermakna antara kelompok K2 dengan kelompok K3, K4, K6, dan K7 ($p>0,05$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar IL-1 β pada kelompok kontrol positif dan sebagian kelompok perlakuan masih berada pada tingkat yang relatif sebanding dengan kelompok kontrol negatif. Tidak ditemukan perbedaan bermakna pada perbandingan antar kelompok perlakuan lainnya, termasuk K3–K4, K3–K5, K3–K6, K3–K7, K4–K5, K4–K6, K4–K7, K5–K6, dan K5–K7 ($p>0,05$).

Secara keseluruhan, hasil uji *Post Hoc Tukey* menunjukkan bahwa induksi luka bakar derajat II menyebabkan peningkatan kadar IL-1 β yang signifikan dibandingkan kondisi sehat. Pemberian gel dexpanthenol 5% menunjukkan penurunan kadar IL-1 β yang bermakna dibandingkan kontrol negatif, sementara pemberian gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol belum menunjukkan perbedaan bermakna secara statistik terhadap kelompok kontrol negatif pada hari ke-7 pengamatan.

Tabel 5.2 Perbedaan Rerata Kadar IL-1 β (*Post Hoc Tukey*)

Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7
K1	-	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*
K2		-	0.279	0.882	0.005*	0.100	0.058
K3			-	0.961	0.565	0.998	0.993
K4				-	0.125	0.744	0.588
K5					-	0.872	0.953
K6						-	1.000

Keterangan: K1 (kontrol sehat), K2 (kontrol negatif; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan base gel), K3 (kontrol positif; tikus yang diinduksi luka bakar dan diberikan silver sulfadiazine 1%), K4 (perlakuan 1; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel propolis 10%), K5 (perlakuan 2; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel dexpanthenol 5%), K6 (perlakuan 3; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel kombinasi propolis 5% + dexpanthenol 2,5%), K7 (perlakuan 4; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel kombinasi propolis 10% + dexpanthenol 5%). *: terdapat perbedaan yang bermakna, $p < 0,050$

**Gambar 5.4** Grafik Rerata Kadar IL-1 β

5.1.4 Hasil Pemeriksaan Kadar TGF- β pada Jaringan Kulit

Hasil analisis kadar *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β) pada jaringan kulit tikus pada tabel 5.3 menunjukkan bahwa rerata kadar TGF- β tertinggi

terdapat pada kelompok K7 ($535,90 \pm 18,53$ ng/L). Nilai rerata selanjutnya ditemukan pada kelompok K5 ($511,36 \pm 14,80$ ng/L), kelompok K4 ($520,56 \pm 16,40$ ng/L), kelompok K6 ($481,04 \pm 15,44$ ng/L), dan kelompok K3 ($432,78 \pm 3,62$ ng/L). Rerata kadar TGF- β terendah ditemukan pada kelompok K1 ($214,88 \pm 7,20$ ng/L), sedangkan kelompok K2 menunjukkan nilai ($453,82 \pm 12,57$ ng/L) (Gambar 5.5).

Tabel 5.3 Hasil Pemeriksaan Kadar TGF- β , Uji *Shapiro Wilk*, *Levene's Test* dan *Kruskal-Wallis*

Variabel	Kelompok							<i>p value</i>
	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	
Kadar TGF-β (ng/L)	214,88 $\pm 7,20$	453,82 $\pm 12,57$	432,78 $\pm 3,62$	520,56 $\pm 16,40$	511,36 $\pm$ 14,80	481,04 $\pm 15,44$	535,90 $\pm 18,53$	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0.817*	0.108*	0.006	0.793*	0.270*	0.813*	0.979*	
<i>Levene's Test</i>								0.073 ^a
<i>Kruskal-Wallis</i>								<0.001 ^b

Keterangan: K1 (kontrol sehat), K2 (kontrol negatif; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan base gel), K3 (kontrol positif; tikus yang diinduksi luka bakar dan diberikan silver sulfadiazine 1%), K4 (perlakuan 1; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel propolis 10%), K5 (perlakuan 2; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel dexpanthenol 5%), K6 (perlakuan 3; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel kombinasi propolis 5% + dexpanthenol 2,5%), K7 (perlakuan 4; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel kombinasi propolis 10% + dexpanthenol 5%). *: data terdistribusi normal $p \geq 0,050$, ^a: data terdistribusi homogen $p \geq 0,050$, ^b: terdapat perbedaan bermakna $p < 0,050$.

Uji normalitas menggunakan metode *Shapiro–Wilk* menunjukkan bahwa data kadar TGF- β terdistribusi normal pada kelompok K1 ($p=0,817$), K2 ($p=0,108$), K4 ($p=0,793$), K5 ($p=0,270$), K6 ($p=0,813$), dan K7 ($p=0,979$). Data

pada kelompok K3 menunjukkan distribusi tidak normal dengan nilai $p=0,006$ ($p<0,05$). Uji homogenitas varians menggunakan *Levene's Test* menunjukkan nilai $p=0,073$ ($p>0,05$), yang menandakan bahwa varians data antar kelompok bersifat homogen.

Ketidakterpenuhan asumsi normalitas pada salah satu kelompok menyebabkan analisis statistik dilanjutkan menggunakan uji non-parametrik *Kruskal–Wallis*. Hasil uji *Kruskal–Wallis* menunjukkan nilai $p<0,001$ ($p<0,05$), yang mengindikasikan adanya perbedaan bermakna kadar TGF- β antar kelompok penelitian. Hasil tersebut menjadi dasar untuk dilakukan analisis lanjutan menggunakan uji *Mann–Whitney* seperti terlihat pada tabel 5.4.

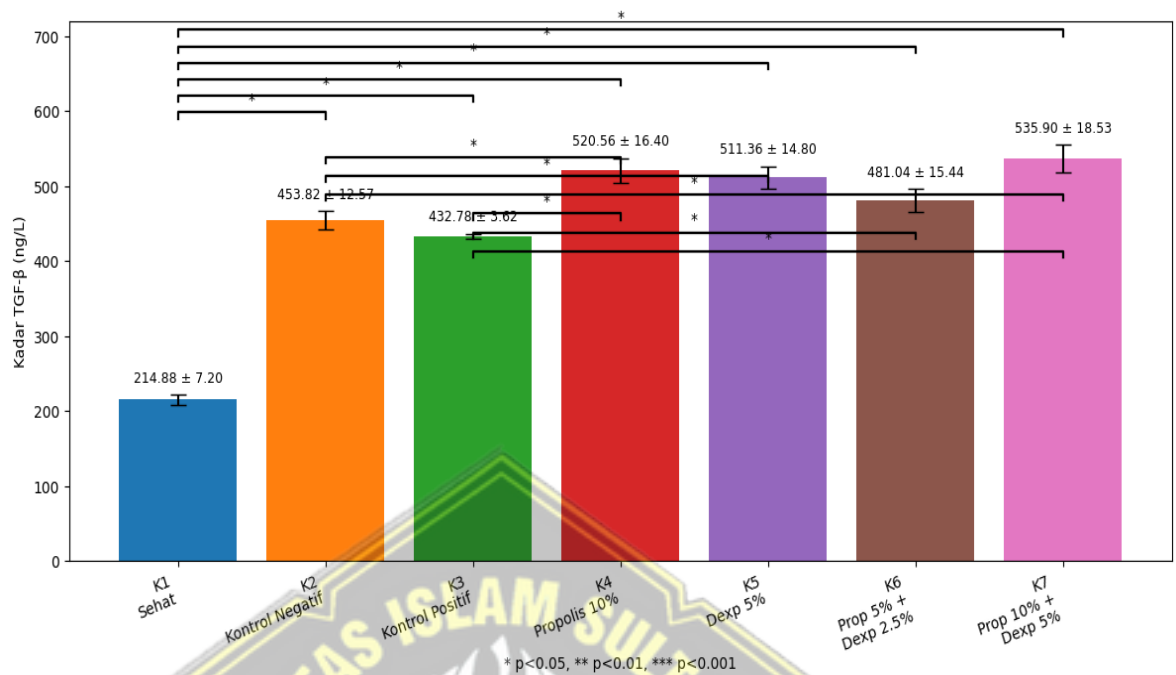
Hasil uji *Mann–Whitney* menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok K1 (kontrol sehat) dengan seluruh kelompok lain, yaitu K2, K3, K4, K5, K6, dan K7, dengan nilai $p<0,05$. Temuan ini menunjukkan bahwa kadar TGF- β pada kelompok sehat secara signifikan lebih rendah dibandingkan kelompok yang mengalami induksi luka bakar derajat II, baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Perbedaan bermakna juga ditemukan antara kelompok K2 (kontrol negatif) dengan kelompok K4 ($p=0,027$), K5 ($p=0,023$), dan K7 ($p=0,015$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak propolis 10%, gel dexpanthenol 5%, serta gel kombinasi ekstrak propolis 10% dan dexpanthenol 5% mampu meningkatkan kadar TGF- β secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif.

Tabel 5.4 Perbedaan Rerata Kadar TGF- β (*Mann-Whitney*)

Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7
K1	-	0.008*	0.008*	0.009*	0.009*	0.009*	0.009*
K2		-	0.212	0.027*	0.023*	0.242	0.015*
K3			-	0.008*	0.008*	0.017*	0.008*
K4				-	0.672	0.110	0.599
K5					-	0.169	0.338
K6						-	0.059

Keterangan: K1 (kontrol sehat), K2 (kontrol negatif; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan base gel), K3 (kontrol positif; tikus yang diinduksi luka bakar dan diberikan silver sulfadiazine 1%), K4 (perlakuan 1; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel propolis 10%), K5 (perlakuan 2; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel dexpanthenol 5%), K6 (perlakuan 3; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel kombinasi propolis 5% + dexpanthenol 2,5%), K7 (perlakuan 4; tikus diinduksi luka bakar dan diberikan gel kombinasi propolis 10% + dexpanthenol 5%). *: terdapat perbedaan yang bermakna, $p < 0,050$

Perbedaan bermakna ditemukan antara kelompok K3 (kontrol positif) dengan kelompok K4 ($p=0,008$), K6 ($p=0,017$), dan K7 ($p=0,008$). Temuan ini menunjukkan bahwa beberapa kelompok perlakuan, khususnya kelompok dengan kombinasi propolis dan dexpanthenol, menunjukkan kadar TGF- β yang lebih tinggi secara signifikan dibandingkan terapi standar silver sulfadiazine. Tidak ditemukan perbedaan bermakna pada perbandingan antar kelompok perlakuan lainnya, termasuk K4–K5, K4–K6, K4–K7, K5–K6, dan K5–K7 ($p>0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa peningkatan kadar TGF- β antar kelompok perlakuan berada pada tingkat yang relatif sebanding.



Gambar 5.5 Grafik Rerata Kadar TGF-β

5.2 Pembahasan

Luka bakar derajat II menyebabkan kerusakan jaringan kulit yang melibatkan epidermis dan sebagian besar lapisan dermis, sehingga memicu respons inflamasi akut sekaligus mengaktifkan mekanisme penyembuhan luka. Kerusakan jaringan akibat cedera termal tidak hanya menimbulkan destruksi struktural, tetapi juga menginisiasi rangkaian respons molekuler dan seluler yang kompleks. Proses penyembuhan luka merupakan rangkaian biologis yang dinamis dan tidak berlangsung secara linear, melainkan melalui fase inflamasi, proliferasi, dan remodeling yang saling beririsan secara temporal. Pada kondisi fisiologis, fase inflamasi tidak sepenuhnya berhenti sebelum fase proliferasi dimulai, tetapi keduanya berlangsung secara bersamaan dengan pola kurva yang saling berhimpitan, di mana inflamasi berangsur menurun seiring meningkatnya aktivitas proliferaatif.¹

Secara molekuler, fase inflamasi ditandai dengan peningkatan sitokin proinflamasi seperti *interleukin-1 β* (IL-1 β), sedangkan fase proliferasi ditandai dengan aktivasi faktor pertumbuhan seperti *transforming growth factor- β* (TGF- β). Kedua biomarker ini tidak berdiri sendiri, melainkan saling berkaitan dalam mengatur transisi antar fase penyembuhan luka. IL-1 β berperan sebagai mediator utama inflamasi awal yang diperlukan untuk pembersihan jaringan rusak dan aktivasi sel imun, sedangkan TGF- β berperan dalam merangsang proliferasi fibroblas, angiogenesis, serta deposisi matriks ekstraseluler sebagai bagian dari proses regenerasi jaringan.^{90,91}

Produksi IL-1 β dan TGF- β terutama berasal dari sel imun innate, khususnya makrofag, yang memiliki peran sentral dalam regulasi penyembuhan luka. Makrofag fenotipe M1 berperan dominan pada fase inflamasi melalui produksi IL-1 β dan mediator proinflamasi lainnya, sedangkan makrofag M2 berperan dalam resolusi inflamasi dan aktivasi fase proliferasi melalui sekresi TGF- β . Oleh karena itu, dinamika kadar IL-1 β dan TGF- β mencerminkan pergeseran fungsi makrofag selama penyembuhan luka dan menjadi indikator penting dalam mengevaluasi kualitas proses penyembuhan jaringan.⁹² Pengamatan pada penelitian ini dilakukan pada hari ke-7 pascainduksi luka bakar. Berdasarkan teori penyembuhan luka, hari ke-7 merupakan periode transisi penting, di mana fase inflamasi mulai menurun namun belum sepenuhnya selesai, sementara fase proliferasi telah meningkat dan mendekati puncaknya. Pada fase ini, IL-1 β masih terdeteksi karena inflamasi masih diperlukan sebagai pemicu keberlanjutan penyembuhan, sedangkan peningkatan TGF- β mencerminkan aktivasi mekanisme regeneratif. Dengan demikian,

keberadaan IL-1 β dan TGF- β secara bersamaan pada fase ini merupakan kondisi fisiologis yang diharapkan dan mencerminkan fase penyembuhan luka yang sedang berlangsung secara aktif.¹¹

Pada kelompok kontrol sehat (K1), kadar IL-1 β dan TGF- β merupakan yang paling rendah dibandingkan seluruh kelompok lainnya. Kadar IL-1 β pada K1 (10.10 ± 0.13 ng/mL) dan TGF- β pada K1 (214.88 ± 7.20 ng/L) mencerminkan keadaan jaringan kulit normal tanpa adanya cedera, sehingga tidak diperlukan aktivasi respons inflamasi maupun proses regenerasi jaringan. Secara fisiologis, IL-1 β dan TGF- β tetap diproduksi dalam kadar basal untuk menjaga homeostasis jaringan, namun tidak mengalami peningkatan signifikan karena tidak terdapat stimulus kerusakan jaringan. Temuan ini sesuai dengan teori bahwa pada jaringan sehat tidak terjadi aktivasi makrofag M1 maupun M2 secara bermakna.^{43,61}

Induksi luka bakar derajat II pada kelompok kontrol negatif (K2) menyebabkan peningkatan kadar IL-1 β yang signifikan dibandingkan K1, yaitu 18.50 ± 0.32 ng/mL ($p < 0.001$), yang mencerminkan aktivasi fase inflamasi akut akibat kerusakan jaringan epidermis dan dermis. Peningkatan IL-1 β pada K2 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K3) yang menunjukkan nilai $17,24 \pm 0,41$ ng/mL, menunjukkan bahwa meskipun silver sulfadiazine memiliki efek antimikroba, efeknya terhadap inflamasi tidak cukup signifikan untuk menurunkan IL-1 β ke level yang lebih rendah daripada kontrol negatif. IL-1 β dilepaskan oleh keratinosit dan makrofag M1 sebagai respons terhadap cedera termal, berperan dalam meningkatkan permeabilitas vaskular, rekrutmen sel inflamasi, serta aktivasi jalur NF- κ B yang memperkuat respons inflamasi lokal.

Respons inflamasi ini diperlukan pada fase awal penyembuhan luka untuk membersihkan jaringan nekrotik dan menciptakan lingkungan yang memungkinkan terjadinya fase berikutnya.⁶¹ Kadar IL-1 β pada K2 menunjukkan peningkatan dibandingkan dengan kelompok perlakuan, jika apabila dibandingkan dengan kelompok yang menerima perlakuan aktif, K6 (16.94 ± 0.51 ng/mL) dan K7 (16.80 ± 0.25 ng/mL) menunjukkan kadar yang lebih rendah. Penurunan kadar IL-1 β ini menunjukkan bahwa kombinasi propolis dan dexpanthenol dapat menurunkan respons inflamasi dibandingkan dengan kontrol negatif yang tidak menerima perlakuan dengan zat aktif.

Di sisi lain, kadar kadar TGF- β , K2 (453.82 ± 12.57 ng/L) juga menunjukkan peningkatan signifikan dibandingkan K1, namun kadar TGF- β pada K2 lebih rendah dibandingkan dengan K4 (propolis 10%) yang menunjukkan kadar TGF- β sebesar 520.56 ± 16.40 ng/L, dan K5 (dexpanthenol 5%) yang menunjukkan kadar TGF- β sebesar 511.36 ± 16.34 ng/L, hal ini menjelaskan bahwa proliferasi fibroblas belum maksimal pada K2 karena tanpa adanya perlakuan zat aktif. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun fase proliferasi telah teraktivasi pada K2, regenerasi jaringan belum maksimal terstimulasi akibat dominasi inflamasi yang belum terkontrol. Lingkungan inflamasi yang belum sepenuhnya terkontrol dapat menghambat aktivasi optimal jalur TGF- β /Smad, sehingga proses regenerasi jaringan belum berlangsung maksimal. Kadar TGF- β pada K6 (511.36 ± 16.44 ng/L) dan K7 (535.90 ± 18.53 ng/L) juga lebih tinggi dibandingkan K2, menunjukkan bahwa kombinasi propolis dan dexpanthenol dapat merangsang proliferasi fibroblas lebih baik dibandingkan dengan kontrol negatif. Namun,

meskipun kombinasi propolis dan dexpanthenol (K6 dan K7) menunjukkan peningkatan kadar TGF- β dan penurunan kadar IL-1 β dibandingkan dengan K2, kadar TGF- β pada K6 dan K7 masih lebih rendah dibandingkan dengan K4 dan K5. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun kombinasi memberikan efek yang positif dalam modulasi inflamasi dan fase proliferasi, efeknya tidak lebih kuat dibandingkan dengan terapi tunggal propolis dan dexpanthenol dalam mendukung regenerasi jaringan.^{91,93}

Pada kelompok yang menerima silver sulfadiazine (K3), kadar IL-1 β sebesar 17.24 ± 0.41 ng/mL tidak menunjukkan perbedaan bermakna dibandingkan K2 ($p > 0.05$), yang menunjukkan bahwa silver sulfadiazine belum cukup kuat menurunkan inflamasi yang berkelanjutan pada fase pengamatan. Hal ini menunjukkan bahwa hingga hari ke-7 pascainduksi, silver sulfadiazine belum mampu menurunkan respons inflamasi secara signifikan. Temuan ini sejalan dengan mekanisme kerja silver sulfadiazine yang terutama berfungsi sebagai agen antimikroba dan tidak memiliki efek langsung dalam modulasi sitokin inflamasi.⁵⁹

Pada kadar TGF- β , K3 (432.78 ± 3.62 ng/L) cenderung lebih rendah dibandingkan dengan K4 (propolis 10%) yang menunjukkan kadar TGF- β sebesar 520.56 ± 16.40 ng/L, dan K5 (dexpanthenol 5%) yang menunjukkan kadar TGF- β sebesar 511.36 ± 16.34 ng/L yang masing-masing menunjukkan peningkatan yang lebih signifikan dalam fase proliferasi. Secara teoritis, senyawa berbasis silver diketahui memiliki efek sitotoksik terhadap fibroblas dan keratinosit, sehingga dapat menghambat proliferasi sel dan aktivasi faktor pertumbuhan. Temuan ini mendukung pandangan bahwa silver sulfadiazine kurang mendukung fase

proliferasi dan regenerasi jaringan, serta sejalan dengan kecenderungan global yang mulai meninggalkan penggunaan silver sebagai terapi utama luka bakar.^{4,59}

Kelompok yang menerima gel ekstrak propolis 10% (K4) menunjukkan penurunan kadar IL-1 β yang lebih signifikan dibandingkan dengan K2, dengan IL-1 β pada K4 (17.76 ± 0.53 ng/mL). Namun, ketika dibandingkan dengan K6 (16.94 ± 0.51 ng/mL) dan K7 (16.80 ± 0.25 ng/mL), kadar IL-1 β pada K4 masih lebih tinggi, meskipun tidak ada perbedaan signifikan. Penurunan ini dapat dijelaskan melalui kandungan senyawa bioaktif propolis seperti *flavonoid*, asam fenolat, dan *caffeic acid phenethyl ester* (CAPE) yang diketahui menghambat aktivasi jalur NF- κ B dan menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi.⁵² Temuan ini sejalan dengan penelitian Nasrullah (2022) yang melaporkan bahwa CAPE mampu menurunkan ekspresi TNF- α dan IL-6 serta meningkatkan ekspresi faktor pertumbuhan pada model luka.²⁵

Pada parameter TGF- β , kadar TGF- β pada K4 adalah 520.56 ± 16.40 ng/L, yang lebih tinggi dibandingkan dengan K2, yang menunjukkan peningkatan fase proliferasi lebih optimal dengan propolis. Namun, kadar TGF- β pada K4 juga tidak berbeda signifikan dengan K6 (511.36 ± 16.44 ng/L) dan K7 (535.90 ± 18.53 ng/L), meskipun K7 menunjukkan kadar TGF- β tertinggi di antara kelompok perlakuan. Penurunan tekanan inflamasi oleh propolis menciptakan lingkungan mikro jaringan yang lebih kondusif bagi aktivasi makrofag M2 dan jalur TGF- β /Smad, sehingga mendukung proliferasi fibroblas dan deposisi kolagen. Dengan demikian, pada K4 terlihat adanya keterkaitan antara penurunan inflamasi dan peningkatan aktivitas

proliferatif, yang mencerminkan transisi penyembuhan luka yang lebih terarah dibandingkan kontrol negatif.^{7,94}

Kelompok dexpanthenol (K5) menunjukkan kadar IL-1 β yang paling rendah di antara seluruh kelompok luka bakar, yaitu 16.26 ± 0.38 ng/mL, yang berbeda signifikan secara statistik ($p < 0.05$) dibandingkan dengan K2. Namun, ketika dibandingkan dengan K6 (16.94 ± 0.51 ng/mL) dan K7 (16.80 ± 0.25 ng/mL), kadar IL-1 β pada K5 menunjukkan nilai yang lebih rendah, meskipun perbedaan antara K5 dengan K6 dan K7 tidak signifikan. Temuan ini menunjukkan bahwa dexpanthenol memiliki efektivitas paling nyata dalam menurunkan stimulus inflamasi berkelanjutan pada hari ke-7 pascainduksi luka bakar. Dexpanthenol bekerja sebagai prekursor asam pantotenat yang berperan dalam pembentukan koenzim A, sehingga mendukung metabolisme sel, reepitelisasi, dan pemulihan struktur epidermis. Percepatan perbaikan jaringan ini mengurangi rangsangan inflamasi residual, sehingga pelepasan IL-1 β menurun secara tidak langsung.^{18,19}

Pada TGF- β , kadar TGF- β pada K5 adalah 511.36 ± 16.34 ng/L, yang lebih tinggi dibandingkan K2 (453.82 ± 12.57 ng/L) dan K3 (432.78 ± 3.62 ng/L). Namun, ketika dibandingkan dengan K6 (511.36 ± 16.44 ng/L) dan K7 (535.90 ± 18.53 ng/L), kadar TGF- β pada K5 menunjukkan nilai yang lebih rendah, meskipun perbedaan ini tidak signifikan. Temuan ini konsisten dengan penelitian Yildizhan et al. (2022) dan Kırız et al. (2024), yang melaporkan bahwa dexpanthenol meningkatkan ekspresi TGF- β dan VEGF tanpa meningkatkan sitokin proinflamasi seperti TNF- α . Mekanisme ini menjelaskan mengapa dexpanthenol tunggal pada penelitian ini menunjukkan efek yang terarah dalam mendukung fase

proliferasi.^{19,27} Kombinasi penurunan IL-1 β yang signifikan dan peningkatan TGF- β yang konsisten menunjukkan bahwa dexpanthenol mendukung keseimbangan optimal antara resolusi inflamasi dan aktivasi fase proliferasi pada fase pengamatan ini.¹⁸

Kelompok kombinasi propolis dan dexpanthenol (K6 dan K7) menunjukkan penurunan kadar IL-1 β menjadi 16.94 ± 0.51 ng/mL (K6) dan 16.80 ± 0.25 ng/mL (K7), yang lebih rendah dibandingkan K2, pemberian kombinasi mampu menurunkan respons inflamasi pasca luka bakar tetapi tidak signifikan secara statistik dibandingkan dengan K5 yang menunjukkan kadar IL-1 β sebesar 16.26 ± 0.38 ng/mL. Namun, ketika dibandingkan antara K6 dan K7, tidak ada perbedaan signifikan pada kadar IL-1 β , yang menunjukkan bahwa kedua kombinasi memberikan efek yang serupa dalam menurunkan respons inflamasi. Arah penurunan IL-1 β ini sejalan dengan kelompok perlakuan aktif lainnya, yang menandakan bahwa kedua agen dalam kombinasi tetap mempertahankan efek biologisnya dalam mengendalikan inflamasi. Namun, secara statistik, besarnya penurunan IL-1 β pada K6 dan K7 tidak melampaui efek yang dihasilkan oleh terapi tunggal, khususnya dexpanthenol, yang menunjukkan bahwa pada fase pengamatan ini kombinasi belum menghasilkan efek supresi inflamasi yang lebih kuat. Kondisi tersebut dapat dijelaskan melalui perbedaan mekanisme kerja masing-masing agen. Propolis berperan dominan pada fase inflamasi awal melalui penghambatan jalur NF- κ B dan penurunan produksi sitokin proinflamasi, sedangkan dexpanthenol berperan lebih besar dalam mempercepat perbaikan struktur epidermis dan transisi menuju fase proliferasi. Pada hari ke-7 pascainduksi, fase inflamasi telah mulai

menurun secara fisiologis, sehingga kontribusi tambahan propolis dalam menekan inflamasi menjadi relatif terbatas dan tidak memberikan keuntungan signifikan dibandingkan terapi tunggal.^{18,26}

Pada TGF- β , kadar TGF- β pada K6 adalah 511.36 ± 16.44 ng/L, dan K7 sebesar 535.90 ± 18.53 ng/L, yang lebih tinggi dibandingkan K2 (453.82 ± 12.57 ng/L), namun K6 masih lebih rendah dibandingkan dengan terapi tunggal K5 (511.36 ± 16.34 ng/L), perbedaan kadar TGF- β antara K6 dan K7 menunjukkan perbedaan tidak bermakna secara statistik dibanding kelompok K4 dan K5, yang menunjukkan bahwa keduanya memberikan efek yang serupa dalam meningkatkan fase proliferasi dibandingkan kelompok tunggal. Secara biologis, ekspresi TGF- β diatur untuk menjaga keseimbangan antara regenerasi jaringan dan pencegahan fibrosis atau pembentukan keloid. Oleh karena itu, peningkatan TGF- β yang bersifat moderat pada kelompok kombinasi dapat mencerminkan mekanisme regulasi homeostatik jaringan yang membatasi stimulasi proliferasi berlebihan.^{95,96}

Dengan demikian, meskipun kombinasi propolis dan dexpanthenol menunjukkan pengaruh terhadap penurunan inflamasi dan peningkatan fase proliferasi, efek yang dihasilkan bersifat aditif terbatas dan belum menunjukkan sinergi yang optimal pada fase penyembuhan luka ini. Temuan ini mengindikasikan bahwa pada hari ke-7 pasca luka bakar, stimulasi regeneratif yang terfokus melalui terapi tunggal, khususnya dexpanthenol, lebih efektif dibandingkan kombinasi.¹

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penyembuhan luka bakar derajat II pada hari ke-7 ditandai oleh penurunan respons inflamasi yang belum sepenuhnya selesai serta peningkatan fase proliferasi yang sedang

berlangsung aktif.¹¹ Pada fase transisi ini, dexpanthenol tunggal menunjukkan performa paling optimal karena merupakan satu-satunya perlakuan yang mampu menurunkan kadar IL-1 β secara signifikan dibandingkan kontrol negatif, sekaligus meningkatkan kadar TGF- β secara bermakna dan searah dengan aktivasi fase proliferasi. Kombinasi propolis dan dexpanthenol memang menunjukkan perbaikan respons inflamasi dan proliferasi dibandingkan silver sulfadiazine, namun tidak memberikan keunggulan tambahan dibandingkan terapi tunggal. Berdasarkan kedua biomarker utama dan karakteristik fase penyembuhan luka pada hari ke-7 pascainduksi, dexpanthenol tunggal merupakan terapi topikal yang paling direkomendasikan pada fase ini.⁵⁴

Penelitian ini memiliki keterbatasan karena pengukuran kadar IL-1 β dan TGF- β hanya dilakukan pada satu titik waktu, yaitu hari ke-7 pascainduksi luka bakar. Pemilihan satu titik waktu ini membatasi kemampuan penelitian dalam menggambarkan dinamika perubahan biomarker secara utuh pada setiap fase penyembuhan luka, khususnya pada fase inflamasi awal dan fase remodeling. Secara biologis, hari ke-7 merupakan fase transisi penting, di mana inflamasi mulai menurun dan fase proliferasi mendekati puncaknya, namun belum mencerminkan resolusi inflamasi maupun akhir proses proliferasi.

Pengambilan sampel pada waktu yang lebih awal diperlukan untuk mengevaluasi puncak respons inflamasi dan peran awal IL-1 β sebagai pemicu fase proliferasi. Sebaliknya, pengambilan sampel pada waktu yang lebih lambat diperlukan untuk menentukan apakah peningkatan TGF- β akan mengalami penurunan seiring masuknya fase remodeling atau justru menetap dalam kadar

tinggi. Kondisi TGF- β yang tetap meningkat secara persisten secara teoritis berpotensi meningkatkan risiko fibrosis atau pembentukan keloid, sehingga evaluasi dinamika TGF- β pada fase lanjut penyembuhan luka menjadi penting.

Selain itu, pengukuran IL-1 β dan TGF- β dilakukan menggunakan metode Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), sehingga hasil yang diperoleh hanya merepresentasikan kadar protein secara kuantitatif dan belum mengevaluasi perubahan histologis jaringan secara langsung. Oleh karena itu, analisis histopatologi dan imunohistokimia diperlukan pada penelitian selanjutnya untuk menilai distribusi ekspresi IL-1 β dan TGF- β pada tingkat jaringan, serta untuk mengidentifikasi pergeseran fenotipe makrofag M1 ke M2 yang berperan dalam transisi fase inflamasi menuju proliferasi selama penyembuhan luka bakar. Selain itu penggunaan variasi dosis dan proporsi kombinasi ekstrak propolis dan dexphantenol masih terbatas, sehingga formulasi yang paling optimal dalam menyeimbangkan respon inflamasi dan aktivasi fase proliferasi belum dapat ditentukan secara pasti.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pemberian gel kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol berpengaruh terhadap kadar TGF- β , tetapi tidak berpengaruh terhadap kadar IL-1 β pada jaringan kulit tikus jantan galur Wistar dengan luka bakar derajat II.
2. Rerata kadar IL-1 β pada jaringan kulit tikus jantan galur Wistar sehat adalah $10,10 \pm 0,13$ ng/mL. Pada tikus model luka bakar derajat II, kadar IL-1 β meningkat pada kelompok yang diberi base gel ($18,50 \pm 0,32$ ng/mL) dan silver sulfadiazine 1% ($17,24 \pm 0,41$ ng/mL). Pemberian perlakuan menurunkan kadar IL-1 β , yaitu pada kelompok gel ekstrak propolis 10% ($17,76 \pm 0,53$ ng/mL), gel dexpanthenol 5% ($16,26 \pm 0,38$ ng/mL), kombinasi gel ekstrak propolis 5% dan dexpanthenol 2,5% ($16,94 \pm 0,51$ ng/mL), serta kombinasi gel ekstrak propolis 10% dan dexpanthenol 5% ($16,80 \pm 0,25$ ng/mL). Kadar IL-1 β paling rendah di antara kelompok perlakuan diperoleh pada kelompok gel dexpanthenol 5%.
3. Rerata kadar TGF- β pada jaringan kulit tikus jantan galur Wistar sehat adalah $214,88 \pm 7,20$ ng/L. Pada tikus model luka bakar derajat II, kadar TGF- β meningkat pada kelompok yang diberi base gel ($453,82 \pm 12,57$ ng/L) dan silver sulfadiazine 1% ($432,78 \pm 3,62$ ng/L). Pemberian perlakuan meningkatkan kadar TGF- β , yaitu pada kelompok gel ekstrak propolis 10% ($520,56 \pm 16,40$ ng/L), gel dexpanthenol 5% ($511,36 \pm 14,80$ ng/L), kombinasi gel ekstrak propolis 5% dan dexpanthenol 2,5% ($481,04 \pm 15,44$ ng/L), serta kombinasi gel

ekstrak propolis 10% dan dexpanthenol 5% ($535,90 \pm 18,53$ ng/L). Kadar TGF- β tertinggi diperoleh pada kelompok kombinasi gel ekstrak propolis 10% dan dexpanthenol 5%.

4. Terdapat perbedaan bermakna kadar IL-1 β dan TGF- β antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada jaringan kulit tikus model luka bakar derajat II. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian gel kombinasi ekstrak propolis 10% dan dexpanthenol 5% berpengaruh terhadap kadar TGF- β , namun tidak berpengaruh terhadap kadar IL-1 β . Pemberian gel dexpanthenol 5% memberikan efek paling optimal dalam menurunkan kadar IL-1 β , sedangkan kombinasi propolis dan dexpanthenol menunjukkan peningkatan yang signifikan pada kadar TGF- β dibandingkan dengan kelompok kontrol.

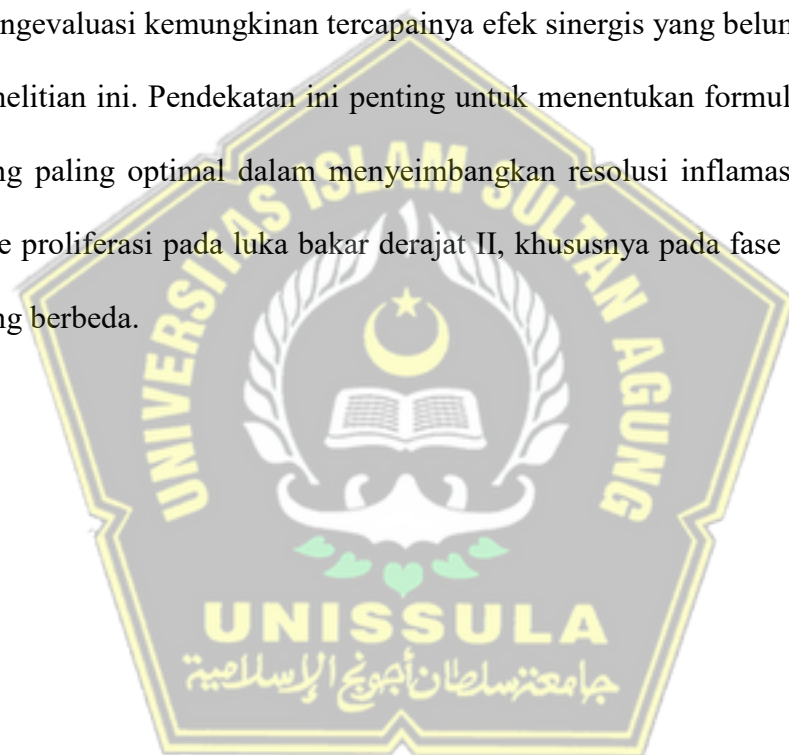
6.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan hasil penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan pengambilan sampel pada beberapa titik waktu yang berbeda, baik pada fase inflamasi awal maupun fase proliferasi dan remodeling. Hal ini bertujuan untuk mengevaluasi dinamika temporal perubahan kadar IL-1 β dan TGF- β secara lebih komprehensif, serta untuk menentukan apakah peningkatan TGF- β pada fase proliferasi akan menurun seiring masuknya fase remodeling atau menetap dalam kadar tinggi yang berpotensi meningkatkan risiko fibrosis atau pembentukan keloid.
2. Penggunaan metode analisis tambahan, seperti pemeriksaan histopatologi dan imunohistokimia, perlu dipertimbangkan untuk melengkapi pemeriksaan ELISA. Pendekatan ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai

distribusi dan ekspresi IL-1 β dan TGF- β pada tingkat jaringan, serta memungkinkan identifikasi pergeseran fenotipe makrofag dari M1 ke M2 yang berperan penting dalam transisi fase inflamasi menuju fase proliferasi selama penyembuhan luka bakar.

3. Penelitian lanjutan disarankan untuk mengeksplorasi variasi dosis dan proporsi kombinasi ekstrak propolis dan dexpanthenol yang lebih luas, guna mengevaluasi kemungkinan tercapainya efek sinergis yang belum terlihat pada penelitian ini. Pendekatan ini penting untuk menentukan formulasi kombinasi yang paling optimal dalam menyeimbangkan resolusi inflamasi dan aktivasi fase proliferasi pada luka bakar derajat II, khususnya pada fase penyembuhan yang berbeda.



DAFTAR PUSTAKA

1. Abazari M, Ghaffari A, Rashidzadeh H, Badeleh SM, Maleki Y. A Systematic Review on Classification, Identification, and Healing Process of Burn Wound Healing. *Int J Low Extrem Wounds*. 2022 Mar 11;21(1):18–30.
2. Macleod T, Berekmeri A, Bridgewood C, Stacey M, McGonagle D, Wittmann M. The Immunological Impact of IL-1 Family Cytokines on the Epidermal Barrier. Vol. 12, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A.; 2021.
3. Massagué J, Sheppard D. TGF- β signaling in health and disease. Vol. 186, *Cell*. Elsevier B.V.; 2023. p. 4007–37.
4. Shrestha S, Wang B, Dutta PK. Commercial Silver-Based Dressings: In Vitro and Clinical Studies in Treatment of Chronic and Burn Wounds. Vol. 13, *Antibiotics*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024.
5. Dekebo A, Geba C, Bisrat D, Jeong JB, Jung C. Wound Healing, Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Activities, and Chemical Composition of Korean Propolis from Different Sources. *Int J Mol Sci*. 2024 Nov 1;25(21).
6. Baron JM, Glatz M, Proksch E. Optimal Support of Wound Healing: New Insights. *Dermatology*. 2020;236(6):593–600.
7. Randall LJ, Bajan S, Tran TD, Harvey RJ, Russell FD. Propolis compound inhibits profibrotic TGF- β 1/SMAD signalling in human fibroblasts. *Sci Rep*. 2025 Jul 26;15(1):27260.
8. Martinotti S, Bonsignore G, Ranzato E. Propolis: A Natural Substance with Multifaceted Properties and Activities. Vol. 26, *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2025.
9. Wang H, Duan C, Keate RL, Ameer GA. Panthenol Citrate Biomaterials Accelerate Wound Healing and Restore Tissue Integrity. *Adv Healthc Mater*. 2023 Dec 15;12(31).
10. Batista CM, de Queiroz LA, Alves ÂVF, Reis ECA, Santos FA, Castro TN, et al. Photoprotection and skin irritation effect of hydrogels containing hydroalcoholic extract of red propolis: A natural pathway against skin cancer. *Heliyon*. 2022 Feb 1;8(2).
11. Ji S, Xiao S, Xia Z. Consensus on the treatment of second-degree burn wounds (2024 edition). *Burns Trauma*. 2024;12.
12. Wardhana A, Winarno GA. Epidemiology and Mortality of Burn Injury in Ciptomangunkusumo Hospital, Jakarta: A 5-Year Retrospective Study. *Jurnal Plastik Rekonstruksi* [Internet]. 2019;6(1). Available from: www.jprjournal.com

13. Warby R, Maani C V. Burn Classification. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539773/>
14. Rowan M, Buehner M, Janak J, Fenrich C, Shields B, Salinas J, et al. 1542: THE IMPACT OF BURN SIZE AND OTHER FACTORS ON WOUND HEALING RATE. *Crit Care Med*. 2016 Dec;44(12):461–461.
15. Zulhendri F, Lesmana R, Tandean S, Christoper A, Chandrasekaran K, Irsyam I, et al. Recent Update on the Anti-Inflammatory Activities of Propolis. *Molecules*. 2022 Dec 1;27(23).
16. Šuran J, Capanec I, Mašek T, Radić B, Radić S, Gajger IT, et al. Propolis extract and its bioactive compounds—from traditional to modern extraction technologies. Vol. 26, *Molecules*. MDPI AG; 2021.
17. Anastassakis K. Vit B5 (Pantothenic Acid). In: Anastassakis K, editor. *Androgenetic Alopecia From A to Z : Vol 2 Drugs, Herbs, Nutrition and Supplements* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2022. p. 309–13. Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-031-08057-9_31
18. Gorski J, Proksch E, Baron JM, Schmid D, Zhang L. Dexpanthenol in wound healing after medical and cosmetic interventions (Postprocedure wound healing). Vol. 13, *Pharmaceuticals*. MDPI AG; 2020. p. 1–13.
19. Yildizhan E, Ulger BV, Akkus M, Akinci D, Basol O. Comparison of topical sucralfate with dexpanthenol in rat wound model. *Int J Exp Pathol*. 2022 Aug 1;103(4):164–70.
20. Peltier E, Mekideche K, Branka JE, Trapp S. New Insights in the Skin Protective Activity of a Dexpanthenol Containing Formula in a Diaper Rash-Like Model. *Journal of Cosmetic Dermatological Science and Applications*. 2020;10:76–84.
21. Takzaree N, Hadjiakhondi A, Hassanzadeh G, Reza Rouini M, Majidi Zolbin M. Transforming Growth Factor- β (TGF- β) Activation in Cutaneous Wounds after Topical Application of Aloe Vera Gel. *J Physiol Pharmacol* [Internet]. 2016; Available from: www.nrcresearchpress.com
22. Nugroho AM, Elfiah U, Normasari R. Pengaruh Gel Ekstrak dan Serbuk Mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap Angiogenesis pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIB pada Tikus Wistar. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2016 Sep;(3).
23. Guo HF, Ali RM, Hamid RA, Zaini AA, Khaza'ai H. A new model for studying deep partial-thickness burns in rats. *Int J Burn Trauma* [Internet]. 2017;7(6):107–14. Available from: www.IJBT.org
24. Tandi J, Widya Ningsih R, Anggi V. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Juwet terhadap Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan. *Farmakologika Jurnal Farmasi*. 2023;

25. Nasrullah MZ. Caffeic Acid Phenethyl Ester Loaded PEG–PLGA Nanoparticles Enhance Wound Healing in Diabetic Rats. *Antioxidants*. 2023 Jan 1;12(1).
26. Manginstar CO, Tallei TE, Salaki CL, Niode NJ, Jaya HK. Dual anti-inflammatory and antimicrobial effects of stingless bee propolis on second-degree burns. *Narra J*. 2025 Apr 15;5(1):e2359.
27. Kırgız Ö, Altuğ ME, Özkan H, Han MC, Akçakavak G, Özarslan AC, et al. 45S5 Bioactive Glass-Ointment Positively Effects on Wound Healing in Rats by Regulating TNF α , Il-10, VEGF, and TGF β . *J Clin Lab Anal*. 2024 Sep 1;38(17–18).
28. Schneider V, Kruse D, de Mattos IB, Zöphel S, Tiltmann KK, Reigl A, et al. A 3D in vitro model for burn wounds: Monitoring of regeneration on the epidermal level. *Biomedicines*. 2021 Sep 1;9(9).
29. Mahmoud NN, Hamad K, Al Shibitini A, Juma S, Sharifi S, Gould L, et al. Investigating Inflammatory Markers in Wound Healing: Understanding Implications and Identifying Artifacts. Vol. 7, *ACS Pharmacology and Translational Science*. American Chemical Society; 2024. p. 18–27.
30. Pellegrini C, Antonioli L, Lopez-Castejon G, Blandizzi C, Fornai M. Canonical and non-canonical activation of NLRP3 inflammasome at the crossroad between immune tolerance and intestinal inflammation. Vol. 8, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A.; 2017.
31. Pyrillou K, Burzynski LC, Clarke MCH. Alternative Pathways of IL-1 Activation, and Its Role in Health and Disease. Vol. 11, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A.; 2020.
32. Kim DH, Lee WW. IL-1 Receptor Dynamics in Immune Cells: Orchestrating Immune Precision and Balance. *Immune Netw*. 2024 Jun 1;24(3).
33. D'arpa P, Leung KP. Toll-like receptor signaling in burn wound healing and scarring. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2017 Oct 1;6(10):330–43.
34. Li D, Wu M. Pattern recognition receptors in health and diseases. Vol. 6, *Signal Transduction and Targeted Therapy*. Springer Nature; 2021.
35. Roh JS, Sohn DH. Damage-associated molecular patterns in inflammatory diseases. Vol. 18, *Immune Network*. Korean Association of Immunologists; 2018.
36. Jiang C, Xie S, Yang G, Wang N. Spotlight on NLRP3 Inflammasome: Role in Pathogenesis and Therapies of Atherosclerosis. *J Inflamm Res*. 2021;14:7143–72.
37. Chen Y, Ye X, Escames G, Lei W, Zhang X, Li M, et al. The NLRP3 inflammasome: contributions to inflammation-related diseases. Vol. 28, *Cellular and Molecular Biology Letters*. BioMed Central Ltd; 2023.

38. Wang H, Ma L, Su W, Liu Y, Xie N, Liu J. NLRP3 inflammasome in health and disease (Review). Vol. 55, *International Journal of Molecular Medicine*. Spandidos Publications; 2025.
39. Frenette AP, Rodríguez-Ramos T, Zanuzzo F, Ramsay D, Semple SL, Soullière C, et al. Expression of Interleukin-1 β protein in vitro, ex vivo and in vivo salmonid models. *Dev Comp Immunol*. 2023 Oct 1;147.
40. Mackman N, Sachetto ATA, Hisada Y. Measurement of tissue factor-positive extracellular vesicles in plasma: strengths and weaknesses of current methods. *Curr Opin Hematol*. 2022 Sep;29(5):266–74.
41. Deng Z, Fan T, Xiao C, Tian H, Zheng Y, Li C, et al. TGF- β signaling in health, disease, and therapeutics. Vol. 9, *Signal Transduction and Targeted Therapy*. Springer Nature; 2024.
42. Li S, Gu X, Yi S. The regulatory effects of transforming growth factor- β on nerve regeneration. Vol. 26, *Cell Transplantation*. Cognizant Communication Corporation; 2017. p. 381–94.
43. Khan I, Rahman SU, Tang E, Engel K, Hall B, Kulkarni AB, et al. Accelerated burn wound healing with photobiomodulation therapy involves activation of endogenous latent TGF- β 1. *Sci Rep*. 2021 Dec 1;11(1).
44. Ruiz-Cañada C, Bernabé-García Á, Liarte S, Rodríguez-Valiente M, Nicolás FJ. Chronic Wound Healing by Amniotic Membrane: TGF- β and EGF Signaling Modulation in Re-epithelialization. *Front Bioeng Biotechnol*. 2021 Jul 6;9.
45. Xiaojie W, Banda J, Qi H, Chang AK, Bwalya C, Chao L, et al. Scarless wound healing: Current insights from the perspectives of TGF- β , KGF-1, and KGF-2. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2022 Aug;66:26–37.
46. Li Y, Fan W, Link F, Wang S, Dooley S. Transforming growth factor β latency: A mechanism of cytokine storage and signalling regulation in liver homeostasis and disease. Vol. 4, *JHEP Reports*. Elsevier B.V.; 2022.
47. Nasr El-Din A, Ata KAESA, Abdel-Gawad AR, Fahmy NF. Impact of High Serum Levels of MMP-7, MMP-9, TGF- β and PDGF Macrophage Activation Markers on Severity of COVID-19 in Obese-Diabetic Patients. *Infect Drug Resist*. 2021 Sep;Volume 14:4015–25.
48. Šuran J, Capanec I, Mašek T, Radić B, Radić S, Gajger IT, et al. Propolis extract and its bioactive compounds—from traditional to modern extraction technologies. Vol. 26, *Molecules*. MDPI AG; 2021.
49. Deldar Y, Pilehvar-Soltanahmadi Y, Dadashpour M, Montazer Saheb S, Rahmati-Yamchi M, Zarghami N. An in vitro examination of the antioxidant, cytoprotective and anti-inflammatory properties of chrysin-loaded nanofibrous mats for potential wound healing applications. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2018 May 19;46(4):706–16.

50. Aydın P, Karaköy Z, Halıcı H. Evaluation of Wound Healing Potential of Galangin on L929 Mouse Fibroblast Cell Lines Using In Vitro Scratch Assay. 2024.
51. Ruttanapattanakul J, Wikan N, Potikanond S, Nimlamool W. Molecular Targets of Pinocembrin Underlying Its Regenerative Activities in Human Keratinocytes. *Pharmaceuticals*. 2022 Aug 1;15(8).
52. El-Sakhawy M, Salama A, Tohamy HAS. Applications of propolis-based materials in wound healing. Vol. 316, *Archives of Dermatological Research*. Institute for Ionics; 2024.
53. El-Kersh DM, El-Ezz RFA, Ramadan E, El-Kased RF. In vitro and in vivo burn healing study of standardized propolis: Unveiling its antibacterial, antioxidant and antiinflammatory actions in relation to its phytochemical profiling. *PLoS One*. 2024 May 1;19(5 May).
54. Doba S, Buzlama A, Kuznetsov A. Pharmacological Effects of Dexpanthenol. Vol. 17, *Research Journal of Pharmacy and Technology*. Research Journal of Pharmacy and Technology; 2024. p. 3499–504.
55. Hebert AA. A new therapeutic horizon in diaper dermatitis: Novel agents with novel action. *Int J Womens Dermatol*. 2021 Sep;7(4):466–70.
56. Proksch E, de Bony R, Trapp S, Boudon S. Topical use of dexpanthenol: a 70th anniversary article. *Journal of Dermatological Treatment*. 2017 Nov 17;28(8):766–73.
57. Bekyarova GY, Vankova DG, Madjova VH, Bekyarov NA, Salim AS, Ivanova DG, et al. Association between Nrf2, HO-1, NF-kB Expression, Plasma ADMA, and Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. *Int J Mol Sci*. 2023 Dec 1;24(23).
58. Üremiş MM, Gürel E, Aslan M, Taşlıdere E. Dexpanthenol protects against nicotine-induced kidney injury by reducing oxidative stress and apoptosis through activation of the AKT/Nrf2/HO-1 pathway. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* [Internet]. 2024;397(2):1105–14. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00210-023-02671-7>
59. Oaks RJ, Cindass R. Silver Sulfadiazine. In: StatPearls [Internet] [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32310514>
60. Sari BR, Yesilot S, Ozmen O, Aydın Acar C. Superior In Vivo Wound-Healing Activity of Biosynthesized Silver Nanoparticles with *Nepeta cataria* (Catnip) on Excision Wound Model in Rat. *Biol Trace Elem Res*. 2024 Mar 1;
61. Jeschke MG, van Baar ME, Choudhry MA, Chung KK, Gibran NS, Logsetty S. Burn injury. *Nat Rev Dis Primers*. 2020 Dec 1;6(1).

62. Sorg H, Tilkorn DJ, Hager S, Hauser J, Mirastschijski U. Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts. Vol. 58, European Surgical Research. S. Karger AG; 2017. p. 81–94.
63. Raziyeve K, Kim Y, Zharkinbekov Z, Kassymbek K, Jimi S, Saparov A. Immunology of acute and chronic wound healing. Vol. 11, Biomolecules. MDPI AG; 2021.
64. Wernick B, Nahirniak P, Stawicki SP. Impaired Wound Healing. In: StatPearls [Internet] [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482254/>
65. Markiewicz-Gospodarek A, Koziół M, Tobiasz M, Baj J, Radzikowska-Büchner E, Przekora A. Burn Wound Healing: Clinical Complications, Medical Care, Treatment, and Dressing Types: The Current State of Knowledge for Clinical Practice. Vol. 19, International Journal of Environmental Research and Public Health. MDPI; 2022.
66. Wong RSY, Tan T, Pang ASR, Srinivasan DK. The role of cytokines in wound healing: from mechanistic insights to therapeutic applications. Vol. 5, Exploration of Immunology. Open Exploration Publishing Inc; 2025.
67. Seth I, Lim B, Cevik J, Gracias D, Chua M, Kenney PS, et al. Impact of nutrition on skin wound healing and aesthetic outcomes: A comprehensive narrative review. Vol. 39, JPRAS Open. Elsevier Ltd; 2024. p. 291–302.
68. Sastri TK, Gupta VN, Chakraborty S, Madhusudhan S, Kumar H, Chand P, et al. Novel Gels: An Emerging Approach for Delivering of Therapeutic Molecules and Recent Trends. Vol. 8, Gels. MDPI; 2022.
69. Gounden V, Singh M. Hydrogels and Wound Healing: Current and Future Prospects. Vol. 10, Gels. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024.
70. Hao D, Nourbakhsh M. Recent advances in experimental burn models. Vol. 10, Biology. MDPI AG; 2021.
71. Masson-Meyers DS, Andrade TAM, Caetano GF, Guimaraes FR, Leite MN, Leite SN, et al. Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. Vol. 101, International Journal of Experimental Pathology. Blackwell Publishing Ltd; 2020. p. 21–37.
72. Ghanbari M, Salkovskiy Y, Carlson MA. The rat as an animal model in chronic wound research: An update. Vol. 351, Life Sciences. Elsevier Inc.; 2024.
73. Mulder PPG, Hooijmans CR, Vlig M, Middelkoop E, Joosten I, Koenen HJPM, et al. Kinetics of Inflammatory Mediators in the Immune Response to Burn Injury: Systematic Review and Meta-Analysis of Animal Studies. Journal of Investigative Dermatology. 2024 Mar 1;144(3):669-696.e10.

74. Porumb V, Trandabst AF, Terinte C, Csruntu ID, Porumb-Andrese E, Dimofte MG, et al. Design and testing of an experimental steam-induced burn model in rats. *Biomed Res Int*. 2017;2017.
75. Sari N, Latief M. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Kelinci Jantan (*Oryctolagus cuniculus*). *Indonesian Journal of Pharma Science*. 2022;4(1):113–22.
76. Ukaegbu K, Allen E, Svoboda KKH. Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Wound Healing: Mechanisms and Therapeutic Potential. Vol. 22, *International Wound Journal*. John Wiley and Sons Inc; 2025.
77. Li X, Liu Y, Tang Y, Xia Z. Transformation of macrophages into myofibroblasts in fibrosis-related diseases: emerging biological concepts and potential mechanism. Vol. 15, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media SA; 2024.
78. Dasari N, Jiang A, Skochdopole A, Chung J, Reece EM, Vorstenbosch J, et al. Updates in Diabetic Wound Healing, Inflammation, and Scarring. *Semin Plast Surg*. 2021 Aug 1;35(3):153–8.
79. Khalid KA, Nawi AFM, Zulkifli N, Barkat MA, Hadi H. Aging and Wound Healing of the Skin: A Review of Clinical and Pathophysiological Hallmarks. Vol. 12, *Life*. MDPI; 2022.
80. Sevinç-Özakar R, Seyret E, Özakar E, Adıgüzel MC. Nanoemulsion-Based Hydrogels and Organogels Containing Propolis and Dexpanthenol: Preparation, Characterization, and Comparative Evaluation of Stability, Antimicrobial, and Cytotoxic Properties. *Gels*. 2022 Sep 1;8(9).
81. Adiputra IMS, Asnawati Munthe S, Ari Tania PO, Budiastutik I, Faridi A, Fitria Rahmiati B, et al. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Watrianthos R, Simarmata J, editors. Vol. 1. Denapasar: Yayasan Kita Menulis; 2021.
82. Daffa Andry Lala M, Rana Sari Fakultas Kedokteran D, Airlangga U, Mayjen Moestopo No J, Kembang P. Perbandingan gambaran histologis lapisan piramidalis area CA1 hipokampus Mus musculus yang dipapar radiasi gelombang elektromagnetik telepon seluler 3G dan 4G. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional* [Internet]. 2023;5. Available from: <http://jurnal.globalhealthsciencegroup.com/index.php/JPPP>
83. Khoirotuzzahra A, Kendal S, Fajaryanti N, Mediastini E, Pitarisa AP. Perbandingan Konsentrasi HPMC Terhadap Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). *Journal of Clinical Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 2023;1(1April2023).
84. Yunita L, Lalel H, Manongga S. Pengaruh diet beras hitam, kacang merah dan daun kelor (*Betamelor*) terhadap perubahan berat badan tikus Sprague-

- Dawley. Kupang Journal of Food and Nutrition Research. 2020 Mar 3;1(1):30–5.
85. Satapathy T, Yadu H, Sahu P. Protective Role of Herbal Bioactive in Modulation of PDGF-VEGF-TGF β -EGF Fibroblast Proliferation and Re-epithelialization for the Enhancement of Tissue Strength and Wound Healing. *Regen Eng Transl Med*. 2025 Sep 22;
 86. Alemzadeh E, Oryan A, Mohammadi AA. Hyaluronic acid hydrogel loaded by adipose stem cells enhances wound healing by modulating IL-1 β , TGF- β 1, and bFGF in burn wound model in rat. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2020 Feb 13;108(2):555–67.
 87. Saleh MA, Shabaan AA, May M, Ali YM. Topical application of indigo-plant leaves extract enhances healing of skin lesion in an excision wound model in rats. *J Appl Biomed*. 2022;20(4):124–9.
 88. Revilla G, Darwin E, Rantam FA. The Therapy of Burn Wound Healing in Rat (Wistar) by Using the Combination of Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs) and Bone Marrow BM-Derived Mesenchymal Stem Cell. *Journal of SCRTE*. 2020;4(2).
 89. Zhang X, Yang Q, Lang Y, Jiang X, Wu P. Rationale of 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine as the Chromogenic Substrate in Colorimetric Analysis. *Anal Chem* [Internet]. 2020 Sep 15;92(18):12400–6. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c02149>
 90. Sayeed R, Nasir MAM, Mahammed NL, Roshan S, Ahmed W. Wound Healing Activity of Poly Herbal Formulation in Albino Rats Using Excision Wound Model, Incision Wound Model, Dead Space Wound Model and Burn Wound Model. *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences* [Internet]. 2018;5(2):2080–7. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/324928400>
 91. Penn W J, Groobelaar O A, Rofle J K. The role of the TGF- β family in wound healing, burns and scarring: a review. *Int J Burn Trauma*. 2011;
 92. Han G, Ceilley R. Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. Vol. 34, *Advances in Therapy*. Springer Healthcare; 2017. p. 599–610.
 93. Qin Z, Xia W, Fisher GJ, Voorhees JJ, Quan T. YAP/TAZ regulates TGF- β /Smad3 signaling by induction of Smad7 via AP-1 in human skin dermal fibroblasts. *Cell Commun Signal*. 2018 Apr 25;16(1):18.
 94. Tangke Arung E, Syafrizal S, Kusuma IW, Paramita S, Amen Y, Kim YU, et al. Antioxidant, Anti Inflammatory and Anti Acne Activities of Stingless Bee (*Tetragonula Biroi*) Propolis. *SSRN Electronic Journal*. 2022;
 95. Kim KK, Sheppard D, Chapman HA. TGF- β 1 signaling and tissue fibrosis. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2018 Apr 1;10(4).

96. Kurek-Górecka A, Klósek M, Pietsz G, Czuba ZP, Kolayli S, Can Z, et al. The Phenolic Profile and Anti-Inflammatory Effect of Ethanolic Extract of Polish Propolis on Activated Human Gingival Fibroblasts-1 Cell Line. *Molecules*. 2023 Nov 1;28(22).

