

Ekstrak Etanol Propolis Isolat Menurunkan Derajat Inflamasi dan Kadar Malondialdehid pada Serum Tikus Model Sepsis

Diding Heri Prasetyo,^{1,3} Endang Listyaningsih Suparyanti,² A. Guntur H.³

¹Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta, ²Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta, ³Divisi Penyakit Tropik dan Infeksi Ilmu Penyakit Dalam Rumah Sakit Moewardi, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

Abstrak

Peran propolis lebah sebagai terapi adjuvan pada pengelolaan sepsis telah dievaluasi. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari efek perlindungan propolis pada sepsis akibat inokulasi *cecal*, derajat inflamasi intestinal, dan kadar malondialdehid (MDA) serum. Penelitian dilakukan di Laboratorium Histologi dan Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, selama periode April–September 2011. Empat puluh tikus *Rattus norvegicus* L jantan dibagi menjadi lima kelompok: kontrol, sepsis, sepsis+antibiotik, sepsis+propolis, dan sepsis+antibiotik+propolis. Pada hari kedelapan, semua hewan coba dikorbankan untuk diukur konsentrasi MDA serum dan perubahan histopatologi di intestinal. Uji konsentrasi MDA serum menggunakan *analysis of variance* (ANOVA), sedangkan derajat inflamasi intestinal dengan Uji Kruskal-Wallis, dan untuk menentukan perbedaan kemaknaan digunakan $p < 0,05$. Kadar MDA serum masing-masing kelompok: kontrol $0,27 \pm 0,07$ $\mu\text{mol/L}$; sepsis $0,39 \pm 0,05$ $\mu\text{mol/L}$; sepsis+antibiotik $0,15 \pm 0,03$ $\mu\text{mol/L}$; sepsis+propolis $0,09 \pm 0,05$ $\mu\text{mol/L}$; dan sepsis+antibiotik+propolis $0,21 \pm 0,11$ $\mu\text{mol/L}$. Derajat inflamasi intestinal menunjukkan kelompok kontrol derajat 0–3; sepsis derajat 3–4; sepsis+antibiotik derajat 1–3; sepsis+propolis 1–3; dan sepsis+antibiotik+propolis derajat 0–2. Simpulan, ekstrak etanol propolis menurunkan derajat inflamasi intestinal dan kadar MDA serum pada hewan coba model sepsis. [MKB. 2013;45(3):161–6]

Kata kunci: Inflamasi, malondialdehid, propolis, sepsis

Ethanol extract of Propolis Reduces the Level of Inflammation and Serum Malondialdehyde in Sepsis Rats Model

Abstract

The role of bee propolis as a adjuvant therapy in the management of sepsis was evaluated. The aim of the study was to investigate the protective effect of propolis against cecal inoculum induced sepsis, the level of intestinal inflammation, and serum malondialdehyde (MDA) concentrations. The study was conducted at School of Medicine, Sebelas Maret University, Surakarta, in April to September 2011. Forty male *Rattus norvegicus* L rats were divided into five groups: control, sepsis, sepsis+antibiotic, sepsis+propolis and propolis+antibiotic+sepsis groups. On the eighth day, all experimental animals were sacrificed. Serum concentrations of MDA were evaluated. In addition, the histopathological changes in intestinal were assessed. Kruskal-Wallis test with Mann-Whitney analysis were used to determine significant differences. Results were expressed as mean \pm standard error of the mean, and value of $p < 0.05$ was considered statistically significant. Malondialdehyde serum means levels were control group 0.27 ± 0.07 $\mu\text{mol/L}$, sepsis 0.39 ± 0.05 $\mu\text{mol/L}$, sepsis+antibiotic 0.15 ± 0.03 $\mu\text{mol/L}$, sepsis+propolis 0.09 ± 0.05 $\mu\text{mol/L}$, and sepsis+antibiotic+propolis 0.21 ± 0.11 $\mu\text{mol/L}$ respectively. The levels of intestinal inflammation were control groups 0 to 3, sepsis 3 to 4, sepsis+antibiotic 1 to 3, sepsis+propolis 1 to 3, and sepsis+antibiotic+propolis 0 to 2, respectively. In conclusions, ethanol extract of propolis reduces the levels of intestinal inflammation and serum MDA in sepsis animal models. [MKB. 2013;45(3):161–6]

Key words: Inflammation, malondialdehyde, propolis, sepsis

Korespondensi: Diding Heri Prasetyo, dr., MSi Lab. Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. Jl IR Sutami No. 36A Kentingan Jebres Surakarta. *mobile* 081931671212, *e-mail* diding_hape@yahoo.co.id

Pendahuluan

Sepsis adalah *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS) yang disebabkan oleh bakteri, jamur, virus, dan parasit. Overproduksi sitokin inflamasi menyebabkan SIRS yang menginduksi apoptosis, nekrosis jaringan, *multi organ failure* (MOF), syok septik, serta kematian.¹ Morbiditas dan mortalitas sepsis di Indonesia masih sangat tinggi,¹ sehingga sepsis merupakan masalah klinis yang penting meskipun telah terjadi kemajuan terapi. Keadaan ini diperberat oleh peningkatan kuman yang multiresisten terhadap bermacam antibiotik sehingga sangat diperlukan kombinasi antibiotik dalam penatalaksanaan sepsis. Keadaan ini menyebabkan waktu perawatan di rumah sakit lebih lama dan memerlukan terapi yang lebih rumit, serta biaya pengobatan yang jauh lebih mahal dan angka kematian yang meningkat.²

Banyak usaha yang telah dilakukan dalam menanggulangi sepsis agar tidak berkembang menjadi *severe sepsis*, syok septik atau MOF, namun masih belum berhasil secara baik dan penderita masih berakhir dengan kematian.

Aktivasi sistem komplemen dan hiperaktivasi respons imunitas selular alamiah dikaitkan dengan respons inflamasi berlebihan yang dicirikan pada sepsis. Setelah dipicu oleh stimulus awal yang luar biasa, neutrofil dan makrofag memproduksi dan merespons sitokin, kemokin, serta produk-produk akibat aktivasi komplemen dan mediator lainnya. Lingkungan proinflamasi seperti ini akan menyebabkan pelepasan mediator sekunder yang kuat, seperti faktor lipid (misal *malondialdehyde*/MDA) dan *reactive oxygen species*/ROS yang selanjutnya akan meningkatkan proses inflamasi.³ Konsentrasi MDA telah digunakan secara luas sebagai indikator keberadaan radikal bebas.

Proses patologik yang utama pada sepsis yaitu apoptosis dari sel-sel efektor imunologi, termasuk sel limfosit dan sel dendrit maupun apoptosis saluran pencernaan. Kematian sel mukosa yang berlebihan akan mendukung atrofi, kerusakan, dan gangguan fungsi pertahanan mukosa saluran pencernaan, dengan demikian mengakibatkan ketidakmampuan respons imun.⁴

Belum terdapat bukti-bukti ilmiah penggunaan propolis lebah untuk terapi sepsis, mendorong dilakukannya penelitian ini. Dari hasil penelitian yang telah ada, propolis lebah menunjukkan aktivitas biologis sebagai antimikrob terhadap gram-negatif dan positif,⁵ *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA),^{6,7} *vancomycin-resistant enterococci* (VRE),⁷ antiprotozoa, antifungal, antiparasit,⁵ sehingga diharapkan akan menghambat agen-agen infeksius pada sepsis.

Produksi yang berlebihan sitokin inflamasi sebagai hasil aktivasi *nuclear factor κ-B* (NF-

κB) menyebabkan pelepasan mediator sekunder (seperti MDA dan ROS) yang selanjutnya akan memperkuat inflamasi.³ Keadaan ini akan dihambat oleh propolis lebah yang memiliki aktivitas biologis imunomodulator, antioksidan, dan antiinflamasi.^{5,8} Dengan sejumlah aktivitas biologis yang ditunjukkan oleh propolis lebah tersebut maka propolis lebah memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi terapi adjuvan untuk dikombinasikan dengan antibiotik dalam penatalaksanaan sepsis, yang diharapkan akan menurunkan resistensi antibiotik, waktu rawat, biaya yang mahal, dan menurunkan angka kematian akibat sepsis.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan sampel diambil dari 40 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan, dengan bobot badan ±150–200 g, dan berumur 4–6 minggu yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan di Universitas Setya Budi, Surakarta. Bahan makanan tikus dipergunakan pakan tikus standar.

Penentuan besar sampel dengan menggunakan rumus⁹:

$$(t - 1) (n - 1) > 15$$

Keterangan:

t : jumlah kelompok perlakuan

n : jumlah sampel per kelompok perlakuan.

Dengan rumus tersebut diperoleh minimal sampel tiap kelompok yaitu 5 (lima) ekor tikus. Dalam penelitian ini kami menggunakan delapan sampel untuk tiap kelompok karena tingkat mortalitas sepsis cukup tinggi.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Histologi dan Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, periode April–September 2011. Setelah diadaptasikan selama seminggu, hewan coba dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok kontrol, sepsis, sepsis+antibiotik (*cefepime* 80 mg/kgBB/hari/i.p.), sepsis+propolis (200 mg/kgBB/hari/oral), dan sepsis+antibiotik+propolis. Alokasi hewan coba ke dalam lima kelompok yang homogen dilakukan secara random untuk mempertahankan validitas internal.

Pada hari ke-8 pasca-*cecal inoculum* seluruh tikus dikorbankan menggunakan eter. Jaringan intestinal diperiksa secara histologis untuk dapat menentukan derajat inflamasi, sedangkan serum dipergunakan untuk pemeriksaan kadar MDA. Untuk menyelidiki mekanisme molekuler yang kompleks pada sepsis, telah dapat dikembangkan berbagai model hewan, salah satunya adalah

Tabel 1 Persentase Derajat Inflamasi Intestinal Masing-masing Kelompok Perlakuan

Derajat	K1 (%)	K2 (%)	K3 (%)	K4 (%)	K5 (%)
0	25	0	0	0	12,5
1	50	0	37,5	25	50
2	25	0	37,5	12,5	37,5
3	0	37,5	25	62,5	0
4	0	62,5	0	0	0

Keterangan: K1=kontrol, K2=sepsis, K3= sepsis+propolis, K4= sepsis+antibiotik, K5= sepsis+propolis+antibiotik

inokulasi *cecal*. Inokulasi *cecal* dibuat baru setiap hari dari tikus donor yang dikorbkan dengan membuat suspensi 200 mg material *cecal* pada 5 mL *dextrose water* 5% (D₅W) steril. Hewan coba diinjeksi *cecal inoculum* (4 mg/tikus/i.p.).¹⁰

Propolis lebah pada penelitian ini diperoleh dari peternak lebah di daerah Kecamatan Kerjo, Kabupaten Karanganyar, Surakarta, Jawa Tengah. Ekstraksi dilakukan dengan metode per kolasi, dengan cairan penyari etanol 80%. Sekitar 1 g (akurasi penimbangan sampai 0,0001 g) bubuk propolis mentah diekstraksi dengan 10 mL etanol 80% di-*shaker* dengan kecepatan 200 rpm pada suhu kamar selama 24 jam. Setelah penyaringan melalui kertas saring, filtrat dibuat hingga 25 mL dengan 80% etanol dan disimpan dalam botol sampai analisis.¹¹

Setelah tikus dikorbkan mempergunakan eter, diambil jaringan intestinal sepanjang 1,5 cm, kemudian direndam dalam larutan bufer formalin 10% selama 10 jam, setelah itu dibuat blok parafin. Tindakan selanjutnya dilakukan potongan serial terhadap blok parafin tersebut untuk dibuat *slide* masing-masing 2 buah, setelah itu dilakukan pengecatan dengan hematoksilin-eosin (HE) untuk dapat menentukan gambaran histologis intestinal, selanjutnya diidentifikasi dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x.

Untuk mengetahui derajat inflamasi intestinal dilakukan dengan *grading* modifikasi Geboes dkk.,⁴ yaitu derajat 0: tidak ada infiltrasi sel radang (jaringan normal), derajat 1: infiltrasi sel radang sampai ke lapisan epitel dari mukosa usus, derajat 2: infiltrasi sel radang sampai ke lapisan epitel mukosa dan sedikit infiltrasi ke lapisan submukosa, derajat 3: infiltrasi sel radang sampai ke lapisan submukosa, dan derajat 4: infiltrasi sel radang sampai ke lapisan muskularis atau transmural.

Darah berasal dari jantung diencerkan dengan *ethylene diamine tetraacetic acid* (EDTA) (EDTA:darah=1,5:1), kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm, suhu 37 °C selama 15 menit. Serum hasil koleksi digunakan untuk pengukuran kadar MDA dengan menggunakan

enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (MDA) sesuai dengan protokol yang sudah dianjurkan dari pabriknya (Pharmingen, San Diego, California, USA).

Analisis kadar MDA serum dengan ANOVA atau alternatifnya, sedangkan derajat inflamasi intestinal mempergunakan Uji Kruskall-Wallis dilanjutkan Uji Mann-Whitney menggunakan program *statistical product and service solutions* (SPSS) *for windows release 15*, dan $p < 0,05$ dipilih sebagai tingkat minimal signifikansinya.

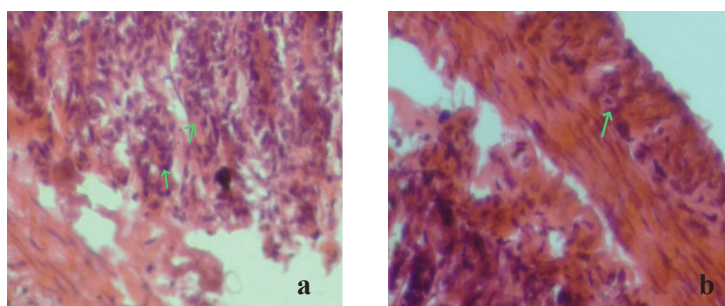
Hasil

Hasil penelitian ini memperlihatkan preparat intestinal pengecatan HE dengan pemberian *cecal inoculum* meningkatkan derajat inflamasi secara bermakna ($p=0,001$). Pemberian propolis dosis 200 mg/kgBB/hari menurunkan derajat inflamasi secara bermakna ($p=0,002$). Penurunan derajat inflamasi intestinal ternyata tidak berbeda bermakna ($p=0,238$) antara pemberian propolis bila dibandingkan dengan pemberian antibiotik (*cefepime* dosis 80 mg/kgBB/hari). Pemberian antibiotik yang dikombinasikan dengan propolis menurunkan derajat inflamasi secara bermakna ($p=0,024$) dibandingkan dengan antibiotik saja.

Induksi *cecal inoculum* dapat meningkatkan kadar MDA serum secara bermakna ($p=0,010$), propolis dosis 200 mg/kgBB/hari menurunkan kadar MDA serum secara bermakna, seperti

Tabel 2 Kadar MDA Serum (µmol/L) Masing-Masing Kelompok Perlakuan

Kelompok	Mean±SD
Kontrol	0,259±0,065
Sepsis	0,388±0,052
Sepsis+antibiotik	0,150±0,028
Sepsis+propolis	0,086±0,045
Sepsis+antibiotik+propolis	0,210±0,111



Gambar 1 Derajat Inflamasi Intestinal Derajat 3 (a) dan 4 (b), dengan Pengecatan HE Pembesaran 400x (Tanda Panah Menunjukkan Sel Inflamasi)

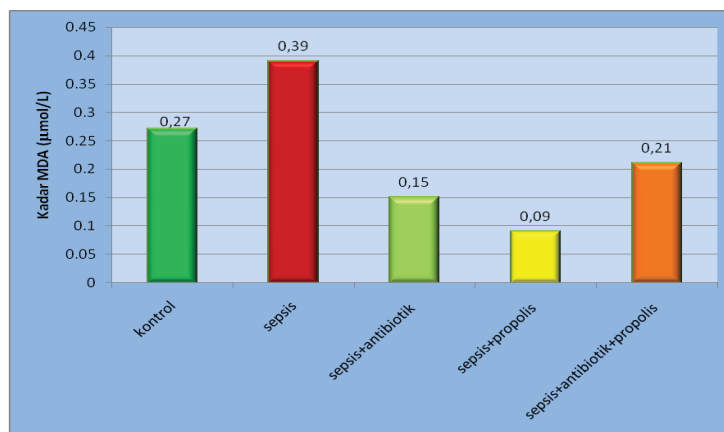
halnya pemberian antibiotik ($p=0,004$). Namun, apabila propolis diberikan bersamaan dengan antibiotik meskipun secara bermakna ($p=0,010$) menurunkan kadar MDA serum, kadar MDA serum justru lebih tinggi bila dibandingkan dengan yang tidak dikombinasi.

Pembahasan

Sepsis merupakan sindrom klinis yang terjadi karena respons tubuh yang berlebihan terhadap rangsangan berbagai produk mikroorganisme yang ditandai dengan hipertermia atau hipotermia, takipnea, takikardia, leukositosis, leukopenia, dengan atau tanpa ditemukan bakteremia.¹

Sepsis sebagai proses patofisiologi kompleks, sejumlah molekul aktif biologis berperan dalam perkembangannya.¹² Karena itu, strategi terapi yang hanya ditujukan terhadap biomarker tertentu tidak berhasil dalam mengendalikan sepsis dan angka kematiannya masih sangat tinggi. Hal ini

menimbulkan gagasan untuk mengembangkan agen terapeutik yang memiliki aktivitas fisiologis dan farmakologis ganda. Patogen bakteri dan juga produknya, seperti lipopolisakarida (LPS) memicu aktivasi NF- κ B yang memainkan peran sentral dalam induksi sitokin dan mediator inflamasi yang menyebabkan patofisiologi sepsis. Selama rangsangan inflamasi, translokasi NF- κ B dari sitosol ke dalam inti sel menginduksi ekspresi sejumlah besar gen yang terlibat dalam inflamasi, termasuk pengkodean sitokin (interleukin-1/IL-1, IL-6 dan *tumor necrosis factor- α* /TNF- α), molekul adhesi, protein fase akut, serta enzim seperti *nitric oxide synthetase* (NOS).¹³ Sitokin proinflamasi dan mediator inflamasi merangsang peningkatan produksi *cyclooxygenase-2* (Cox-2) dalam makrofag dan sel endotel yang memberikan kontribusi edema dan vasodilatasi pada sisi inflamasi. Aktivasi NF- κ B dan konsekuensinya terjadi pada semua organ menyebabkan kerusakan organ yang akhirnya terjadi kegagalan organ dengan peningkatan



Gambar 2 Kadar MDA Serum Masing-masing Kelompok Perlakuan

morbiditas dan mortalitas. Hal ini membuat NF- κ B sebagai target terapi yang menarik untuk mengontrol farmakologis endotoksemia. Di antara efek menguntungkan propolis dilaporkan *caffeic acid phenethyl ester* (CAPE) yang terkandung dalam propolis memiliki efek penghambatan pada aktivasi NF- κ B dengan aktivitas antiinflamasi dan antioksidan.¹⁴ Hal ini mendorong kita untuk menyelidiki efek potensi perlindungan propolis pada sepsis kompleks dengan penekanan khusus pengaruhnya pada pembentukan oksidan (MDA) dan perubahan patologis yang disebabkan oleh LPS dalam jaringan intestinal selama proses endotoksemia.

Pada penelitian ini, ternyata kelompok kontrol memperlihatkan gambaran histologis intestinal dengan *grade 1* (50%) dan *grade 2* (25%). Hal ini disebabkan oleh karena variabel luar yang tidak dapat dikendalikan, seperti kepekaan tikus terhadap suatu zat, keadaan psikologis tikus, maupun kondisi awal intestinal tikus.

Pemberian material *cecal inoculum* secara bermakna dapat meningkatkan derajat inflamasi intestinal tikus (Tabel 1), hasil ini menggambarkan infeksi polimikrob. Proses patologik utama sepsis terjadi apoptosis saluran pencernaan. Proses ini menyebabkan hipoperfusi intestinal yaitu berupa terganggunya mikrosirkulasi mukosa intestinal, disfungsi barier intestinal dengan peningkatan permeabilitas usus, invasi bakteri patogen dan translokasi toksin ke dalam sirkulasi darah, serta pelepasan sitokin inflamasi berlebihan seperti TNF- α , interferon- γ /IFN- γ , IL-1 β , dan IL-6 yang merupakan tanda reaksi inflamasi.¹⁵

Pemberian ekstrak etanol propolis (EEP) dosis 200 mg/kgBB/hari mampu menurunkan derajat inflamasi intestinal secara bermakna. Hasil ini sesuai dengan teori yang diungkapkan Takaisi-Kikuni dan Schilcher dalam Sabir¹⁶ yang menyatakan bahwa EEP mampu menyebabkan disorganisasi sitoplasma, membran sitoplasmik, serta dinding sel yang semuanya mengakibatkan bakteriolisis parsial dan juga penghambatan sintesis protein sehingga bersifat antibakteri. Selain itu, kandungan CAPE di dalam propolis dapat menghambat aktivitas dalam pengikatan *deoxyribonucleic acid* (DNA), transkripsi NF- κ B, dan *activator protein-1* (AP-1), tanpa memengaruhi degradasi protein penghambat NF- κ B yang terletak dalam sitoplasma, maka propolis memiliki aktivitas sebagai imunomodulator dan antiinflamasi.¹⁷

Propolis juga menstimulasi fagositosis oleh makrofag serta dapat menurunkan produksi sitokin TNF- α , selain menghambat komplemen, baik jalur klasik maupun alternatif. Propolis meningkatkan sitotoksitas dari *natural killer cells* dan menstimulasi produksi antibodi, sehingga

propolis berfungsi sebagai imunomodulator.¹⁸

Propolis dapat berfungsi sebagai antioksidan kuat yang dapat mencegah timbulnya senyawa radikal bebas. Pada keadaan sepsis, banyak terjadi peningkatan produk radikal bebas (ROS) sehingga propolis bermanfaat dalam penatalaksanaan sepsis. Propolis juga berfungsi sebagai penetral racun karena berbagai kandungan di dalam propolis dapat membersihkan polutan dan racun di dalam tubuh sehingga metabolisme sel dapat kembali berlangsung optimal. Mekanisme tersebut menghambat apoptosis sel epitel intestinal yang berpengaruh pada penurunan derajat inflamasi intestinal, dan kadar MDA. Hasil ini sesuai dengan penelitian Won-Kyo dkk.,¹⁹ bahwa CAPE secara efektif menekan aktivitas NF- κ B.

Pemberian antibiotik *cefepime* 80 mg/kgBB/hari dapat menurunkan derajat inflamasi intestinal secara bermakna, juga merupakan sefalosporin generasi empat dengan struktur kimia yang dapat mempercepat penetrasinya ke dinding sel bakteri. *Cefepime* mempunyai spektrum yang luas dan lebih stabil terhadap enzim β -laktamase sehingga berpotensi untuk mengatasi bakteri patogen yang telah resisten terhadap gol. sefalosporin generasi sebelumnya. *Cefepime* dapat menghambat sintesis dinding sel bakteri dan juga berefek bakterisidal (membunuh bakteri). Efektivitas *cefepime* telah teruji secara klinis dan dari segi keamanan, dapat ditoleransi dengan baik.²⁰ Dengan efek bakterisid ini, maka pemberian *cefepime* dapat menurunkan agen penyebab sepsis. Keadaan ini dapat dilihat dari hasil penelitian yang mampu menurunkan derajat inflamasi intestinal dan juga kadar MDA serum.

Propolis dapat dikembangkan sebagai terapi adjuvan pada penatalaksanaan sepsis. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian Korish dan Arafa¹⁴ yang menunjukkan bahwa efek antiinflamasi, antioksidan, dan kemampuan untuk menghambat produksi NF- κ B merupakan mekanisme protektif yang dimiliki CAPE, yang menjanjikan untuk membantu pencegahan dan pengobatan syok septik. Simpulan, propolis dosis 200 mg/kgBB/hari menurunkan derajat inflamasi intestinal dan kadar MDA serum pada hewan coba model sepsis.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Direktorat Jenderal (Dirjen) Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional Republik Indonesia yang telah mendanai penelitian ini dalam program DIPA-BLU Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret tahun 2011.

Daftar Pustaka

1. Guntur HA. Sepsis. Dalam: Prasetyo DH, penyunting. SIRS, sepsis, dan syok septik (imunologi, diagnosis, dan penatalaksanaan). Surakarta: Sebelas Maret University Press; 2008. hlm. 1–15.
2. Hadi U. Treatment strategy for antibiotic resistance bacteria in hospital. Dalam: Guntur, Yusup, Prasetyo DH, penyunting. Kumpulan Makalah National Symposium the 3rd Indonesian Sepsis Forum. Solo: UNS Press; 2009.
3. Rittirsch D, Flierl MA, Ward PA. Harmful molecular mechanisms in sepsis. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(10):776–87.
4. Geboes K, Riddell R, Ost A, Jensfelt B, Persson T, Lofberg R. A reproducible grading scale for histological assessment of inflammation in ulcerative colitis. *Gut*. 2000;47(3):404–9.
5. Khalil ML. Review. Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2006;7(1):22–31.
6. Onlen Y, Duran N, Atik E, Savas L, Altug E, Yakan S, dkk. Antibacterial activity of propolis against MRSA and synergism with topical mupirocin. *J Altern Complement Med*. 2007;13(7):713–8.
7. Boukraa L, Sulaiman SA. Rediscovering the antibiotics of the hive. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov*. 2009;4(3):206–13.
8. El-Bassuony A, AbouZid S. A new prenylated flavanoid with antibacterial activity from propolis collected in Egypt. *Nat Prod Commun*. 2010;5(1):43–5.
9. Supranto J. Teknik sampling untuk survei dan eksperimen. Edisi ke-4. Jakarta: PT Rineka Cipta; 2007.
10. Chopra M, Sharma AC. Distinct cardiodynamic and molecular characteristics during early and late stages of sepsis-induced myocardial dysfunction. *Life Sci*. 2007;81(4):306–16.
11. Fu SH, Yang MH, Wen HM, Chern JC. Analysis of flavonoids in propolis by capillary electrophoresis. *J Food Drug Anal*. 2005;13(1):43–50.
12. Punyadeera C, Schneider EM, Schaffer D, Hsin-Yun H, Joos TO, Kriebel F, dkk. A biomarker panel to discriminate between systemic inflammatory response syndrome and sepsis and sepsis severity. *J Emerg Trauma Shock*. 2010;3(10):26–35.
13. Liu SF, Malik AB. NF- κ B activation as a pathological mechanism of septic shock and inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2006;290(4):L622–45.
14. Korish AA, Arafa MM. Propolis derivatives inhibit the systemic inflammatory response and protect hepatic and neuronal cells in acute septic shock. *Braz J Infect Dis*. 2011;15(4):332–8.
15. Jürgen B, Edda K, Claudia DS, Björn L, Patrick S, Ortrud VH, dkk. Effects of dexamine on the intestinal microvascular blood flow and leucocyte activation in a sepsis model in rats. *Crit Care*. 2006;10(4):R117.
16. Sabir A. Respons inflamasi pada pulpa gigi tikus setelah aplikasi ekstrak etanol propolis (EEP). *Dent J*. 2005;38(2):77–83.
17. Ang ES, Pavlos NJ, Chai LY, Qi M, Cheng TS, Steer JH, dkk. Caffeic acid phenethyl ester, an active component of honeybee propolis attenuates osteoclastogenesis and bone resorption via the suppression of RANKL-induced NF- κ B and NFAT activity. *J Cell Physiol*. 2009;221(3):642–9.
18. Ikeda R, Yanagisawa M, Takahashi N, Kawada T, Kumazawa S, Yamaotsu N, dkk. Brazilian propolis-derived components inhibit TNF- α -mediated downregulation of adiponectin expression via different mechanisms in 3T3-L1 adipocytes. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1810(7):695–703.
19. Jung WK, Lee DY, Choi YH, Yea SS, Choi I, Park SG, dkk. Caffeic acid phenethyl ester attenuates allergic airway inflammation and hyperresponsiveness in murine model of ovalbumin-induced asthma. *Life Sci*. 2008;82(13–14):797–805.
20. Yunus F. Sefalosporin generasi ke-empat: cefepime. *CDK*. 2010;37(1):63–4.