

DOI: <http://dx.doi.org/10.33846/sf13nk342>

Aktivitas Madu Trigona (*Trigona sp*) Terhadap Gambaran Infiltrasi Sel Radang di Dermis pada Tikus (*Rattus novergicus*) dengan Model Luka Bakar

Rian Anggia Destiawan

Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas dr. Soebandi; rianad@uds.ac.id (koresponden)

Anas Fadli Wijaya

Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas dr. Soebandi; anasfw@uds.ac.id

Ahdiah Imroatul Muflihah

Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas dr. Soebandi; ahdiah.muflihah553@gmail.com

ABSTRACT

Burns are caused by chemicals, hot liquids and fires. Burns cause skin tissue necrosis, thus removing cell components including heat shock protein (HSP), monosodium urate, high-mobility group box protein 1 (HMGB1), extracellular ATP, and mitochondrial DNA including nucleic acids which are referred to as Damage Associated Molecules. Patterns (DAMPs). DAMPs cause increased infiltration of inflammatory cells into tissues. The purpose of this study was to determine the activity of trigona honey (*Trigona sp*) based on inflammatory cell infiltration in rats (*Rattus novergicus*) with the burn model. The research method was to group into 5 groups, including KN (negative control), K-1 (burns + placebo), K-2 (burns + silver sulfadiazine), K-3 (burns + 50% trigona honey), and K-4 (burns + 100% trigona honey), then stained with Hematoxylin Eosin (HE) to see the presence of inflammatory cell infiltration. Statistical analysis using the Kruskal Wallis and Mann-Whitney tests. Microscopically (inflammatory cell infiltration score) it showed that the KN group had a score of 0, group K-1 had a score of 4, group K-2 had a score of 2, groups K-3 and K-4 had a score of 4 and 2. statistically, there was no difference between groups. The conclusion of this study is that 100% trigona honey can reduce inflammatory cell infiltration in the dermis area of skin that has experienced burns.

Keywords: burns, trigona honey, silver sulfadiazine

ABSTRAK

Luka bakar disebabkan oleh bahan kimia, cairan panas, dan kebakaran. Luka bakar menyebabkan nekrosis jaringan kulit, sehingga mengeluarkan komponen-komponen sel diantaranya *heat shock protein* (HSP), *monosodium urate*, *high-mobility group box protein 1* (HMGB1), ekstraseluler ATP, dan DNA mitokondria termasuk asam nukleat yang disebut sebagai *Damage Associated Molecular Pattern* (DAMPs). DAMPs menyebabkan peningkatan infiltrasi sel radang ke dalam jaringan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas madu trigona (*Trigona sp*) berdasarkan infiltrasi sel radang pada tikus (*Rattus novergicus*) dengan model luka bakar. Metode penelitian ini adalah melakukan pengelompokan menjadi 5 kelompok, di antaranya KN (kontrol negatif), K-1 (Luka bakar + placebo), K-2 (Luka bakar + silver sulfadiazine), K-3 (Luka bakar + madu trigona 50%), dan K-4 (Luka bakar + madu trigona 100%), kemudian dilakukan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE) untuk melihat adanya infiltrasi sel radang. Analisa statistik menggunakan uji Kruskal Wallis dan Mann-Whitney. Secara mikroskopis (skor infiltrasi sel radang) menunjukkan bahwa pada kelompok KN nilai skoringnya 0, kelompok K-1 nilai skoringnya 4, kelompok K-2 nilai skoringnya 2, pada kelompok K-3 dan K-4 nilai skoringnya 4 dan 2. Namun secara statistik, tidak terjadi perbedaan antar kelompok. Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa madu trigona 100% dapat menurunkan infiltrasi sel radang di daerah dermis pada kulit yang mengalami luka bakar.

Kata kunci: luka bakar, madu trigona, silver sulfadiazine

PENDAHULUAN

Luka bakar adalah luka yang disebabkan oleh panas dari cairan panas, padatan, atau api. Penyebab terbesar terjadinya luka bakar adalah api dengan persentase 53,1% pada orang dewasa dan air panas dengan prosentasi 52%. Angka kejadian dan mortalitas luka bakar masih tinggi⁽¹⁾. Kejadian luka bakar di Indonesia menyebabkan kematian sekitar 195.000 orang tiap tahun. Jumlah kematian pada anak berusia 5-14 tahun sebesar 41.575, usia 15-29 tahun sebesar 49.067, dan usia 0-4 tahun sebesar 62.655 yang diakibatkan oleh luka bakar⁽²⁾.

Luka bakar menyebabkan sel mengeluarkan *heat shock protein* (HSP), *monosodium urate*, *high-mobility group box protein 1* (HMGB1), ATP ekstraseluler, DNA mitokondria termasuk asam nukleat, serta IL-1 α dan IL-33, komponen tersebut disebut sebagai *damage associated molecular patterns* (DAMPs). Selain itu, matriks ekstraseluler seperti hyaluronic acid, kolagen, elastin, fibronectin, dan laminin⁽³⁾. DAMPs dapat mengaktifasi sel imunitas dan produksi sitokin inflamasi⁽⁴⁾. Adanya komponen sel yang dikeluarkan atau DAMPs, menyebabkan neutrofil bermigrasi ke dalam jaringan kulit dari pembuluh darah, sehingga akan terjadi infiltrasi sel radang yang meningkat. Peningkatan tersebut menyebabkan meningkatnya sitokin proinflamatori (hiperinflamasi). Akut hiperinflamasi menyebabkan kondisi SIRS yang berdampak pada perubahan psikologis diantaranya hipotermia atau hipertermia, meningkatnya denyut jantung, dan leukositopenia. Sedangkan SIRS yang tidak terkontrol menyebabkan *multiple organ failure* (MOF)⁽⁵⁾ dan sepsis⁽⁶⁾. Selain itu, Sitokin proinflamasi yang berlangsung lama menyebabkan terjadinya scarring hipertrofik⁽⁶⁾. Sepsis adalah disregulasi sistem imunitas yang dapat menyebabkan disfungsi berbagai organ⁽⁷⁾.

Madu trigona (*Trigona sp*) merupakan salah satu madu yang dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Madu Trigona (*Trigona sp*) memiliki beberapa kandungan penting diantaranya adalah polifenol dan flavonoid, alkaloid, butanoic acid, 2-ethyl-3-oxo, methyl ester, 1,3,5-triazine-2,4,6-triamine, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl, propanal, 2,3-dihydroxy, 1,2,3 propanetriol, monoacetat, pentanoic acid, propylester (CAS), 2-amino-9-(3,4-dihydroxy-5-dodecanoic acid/lauric acid, 5,5-D2-trans-3,4-dihydroxy, I-Sorbose, Tetradecanoic acid/myristic acid, glucitol, hexadecanoic acid/palmitic acid, octadec-9-enoic acid, octadecanoic acid/steric acid, dodecanoic acid, dodecanoic acid, 1(hydro-⁽⁸⁾). Senyawa flavonoid dapat menekan ekspresi NFκB (faktor transkripsi proinflamasi) dan P38 sehingga dapat menurunkan sitokin pro-inflamasi dan menaikkan sitokin anti-inflamasi⁽⁹⁾. Selain itu, kandungan dari flavonoid yaitu quercetin, berperan dalam menurunkan sitokin proinflamasi diantaranya yaitu TNF-α dan MCP-1⁽⁹⁾. Menurunnya sitokin proinflamasi, menyebabkan menurunnya infiltrasi sel radang ke jaringan kulit dan dapat mencegah terjadinya *Multiple Organ Failure* (MOF). Berdasarkan teori dan penelitian diatas, Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas madu trigona (*Trigona sp*) terhadap infiltrasi sel radang di dermis pada tikus (*Rattus novergicus*) dengan model luka bakar.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek madu trigona terhadap infiltrasi sel radang di daerah dermis pada tikus (*Rattus novergicus*) dengan model luka bakar.

METODE

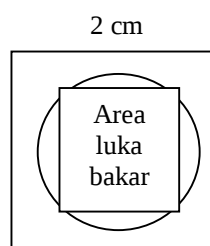
Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan rancangan penelitian *post test only control group design* yaitu pengujian atau pengambilan data dilakukan setelah semua perlakuan selesai.

Penelitian ini dilakukan dari bulan Juli 2021, dan dilakukan selama 4 bulan, dimulai dari persiapan, persiapan madu trigona, pembelian tikus, perlakuan luka bakar dan terapi berdasarkan konsentrasinya. Pemeliharaan, pembuatan konsentrasi madu trigona (50% dan 100%), perlakuan luka bakar pada tikus, terapi dan isolasi organ dilakukan di Laboratorium Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi, pembuatan preparat histologi dengan pewarnaan H&E serta pembacaan histologi dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Madu trigona diperoleh dari peternakan lebah Trigona sp yang ada di silo kab. Jember. Madu disimpan dalam suhu ruangan. Selanjutnya madu dilakukan uji fitokimia alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, dan tanin.

Tikus (*Rattus novergicus*) yang digunakan berjenis kelamin jantan memiliki berat badan 200gr–250gr dan terbebas dari patogen yang spesifik atau *Specific Pathogen Free* (SPF). Tikus dibagi menjadi 5 kelompok yaitu KN (kelompok negatif), K-1 (Luka bakar + placebo), K-2 (luka bakar + silver sulfadiazine), K-3 (Luka bakar + madu trigona 50%), dan K-4 (Luka bakar + madu trigona 100%). Kemudian tikus dilakukan aklimatisasi selama 14 hari sebelum perlakuan luka bakar, tujuannya adalah untuk menyesuaikan tikus dengan lingkungan yang baru.

Pembuatan hewan model luka bakar dilakukan dengan cara tikus dianestesi menggunakan ketamine xylazine sebanyak 0,2 ml secara *intramuscular* dibagian paha tikus. Daerah punggung tikus dicukur membentuk persegi dengan ukuran panjang dan lebar 2 cm. Kemudian dibuat luka bakar dengan cara memanaskan paku dengan kepala diameter 1 cm yang dilapisi kain kasa di air mendidih suhu 100°C selama beberapa detik, kemudian tempelkan ke kulit di punggung tikus yang telah dicukur selama 10 detik. Tekanan yang diberikan sesuai dengan berat paku besi yang digunakan. Kemudian diberikan normal saline secukupnya sampai merata di area luka dengan tujuan untuk resusitasi.



Gambar 1. Lokasi pembuatan luka bakar di area punggung tikus

Dosis pada penelitian ini dibuat dalam dua formulasi dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 50%, dan 100%.

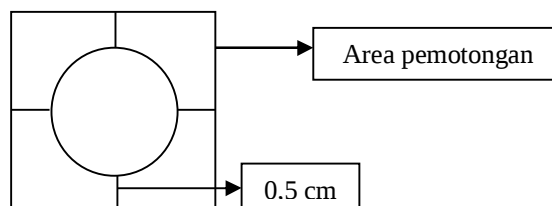
Tabel 1. Formulasi salep (*Trigona sp*)

No	Nama Bahan	K4 (50%)	K5 (100%)
1	Madu Trigona (ml)	50	100
2	Vaselin alba (ml)	Sampai 100	Sampai 100

Pemberian terapi (placebo, silver sulfadiazine, dan madu trigona) dilakukan dengan cara mengoleskan sekitar area luka secara sirkuler dari dalam keluar dengan tujuan supaya pengolesan menjadi merata, pemberian terapi ini dilakukan sehari sekali selama 7 hari.

Setelah dilakukan pengobatan terakhir di hari ke-7, pada hari ke-8 Tikus dieutanasi menggunakan kloroform secara inhalasi. Kemudian, dilakukan pengambilan sampel jaringan kulit, dengan cara memotong kulit yang tidak mengalami luka bakar sekitar 0,5 cm dari tepi luka dengan membentuk persegi kemudian lapisi dengan

kertas saring. Setelah itu, dimasukkan ke pot sampel yang sudah berisi larutan fiksasi yaitu larutan *Neutral Buffer Formalin* (NBF) 10%, dengan tujuan untuk menjaga stabilitas sel dan menjaga sel supaya tidak cepat rusak.



Gambar 2. Area pemotongan kulit

Jaringan yang sudah diisolasi dan dimasukkan ke NBF 10%, kemudian dilakukan dehidrasi yaitu menarik air dari dalam jaringan dengan cara merendam jaringan di alkohol 70% selama 15 menit, alkohol 80% selama 1 jam, alkohol 95% selama 2 jam, alkohol absolut I selama 1 jam, alkohol absolut II selama 1 jam, dan alkohol absolut III selama 1 jam. Setelah proses dehidrasi selesai, dilanjutkan ke proses clearing yaitu proses penjernihan dengan merendam di larutan xylol I selama 1 jam, xylol II selama 2 jam dan xylol III selama 2 jam. Kemudian dilanjutkan ke proses infiltrasi menggunakan parafin cair I selama 2 jam dan parafin cair II selama 2 jam. Proses terakhir adalah proses embeding yaitu menanam jaringan ke dalam parafin parafin cair kemudian dinginkan. Setelah itu dilakukan proses pemotongan jaringan dengan ketebalan 4-6 mikron, hasil potongan tersebut direndam di waterbath dengan suhu 56-60°C, kemudian ditempelkan ke objek glass dan keringkan di hotplate dengan suhu 35°C sampai 45°C selama 12 jam, dan preparat siap dilakukan pewarnaan.

Tahap pewarnaan, hasil potongan jaringan, kemudian dilakukan perendaman pada larutan Xylol sebanyak 2 kali masing-masing 2-3 menit. Selanjutnya direndam menggunakan larutan alkohol absolut sebanyak 2 kali masing-masing 3 menit. Proses selanjutnya, perendaman di larutan alkohol 95% sebanyak dua kali masing-masing 3 menit, dicuci dengan air mengalir selama 10 menit, kemudian dilakukan pewarnaan hematoxylin dan diamkan selama 15 menit, dicuci lagi menggunakan air mengalir selama 20 menit. Setelah dicuci, warnai jaringan menggunakan eosin selama 15 detik – 2 menit. Rendam di larutan alkohol 95% sebanyak 2 kali dan masing-masing 2-3 menit, dan masukkan ke larutan alkohol absolut sebanyak 2 kali, masing-masing 2-3 menit. Terakhir masukkan preparat jaringan ke dalam xylol sebanyak 3 kali, masing-masing 3 menit. Kemudian dilakukan mounting. Hasil dari pewarnaan ini adalah inti berwarna biru dan sitoplasma berwarna merah, sedangkan otot kulit juga berwarna merah.

Analisa hasil pada penelitian ini adalah menggunakan skoring berdasarkan infiltrasi sel radang yang berada di jaringan kulit bagian dermis menggunakan mikroskop. Skoring dibagi menjadi 5 skor. Skor 0 menunjukkan tidak adanya infiltrasi sel leukosit. Skor 1 menunjukkan adanya infiltrasi sel radang jarang. Skor 2 menunjukkan infiltrasi sel radang fokal. Skor 3 menunjukkan infiltrasi sel radang gabungan, individu tidak dapat dibedakan. Skor 4 menunjukkan seluruh bidang terdapat infiltrasi sel radang⁽¹⁰⁾. Analisa statistika yang digunakan adalah *Kruskal Wallis* dengan nilai signifikansi $P < 0,05$ (95%), kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan di tiap kelompok

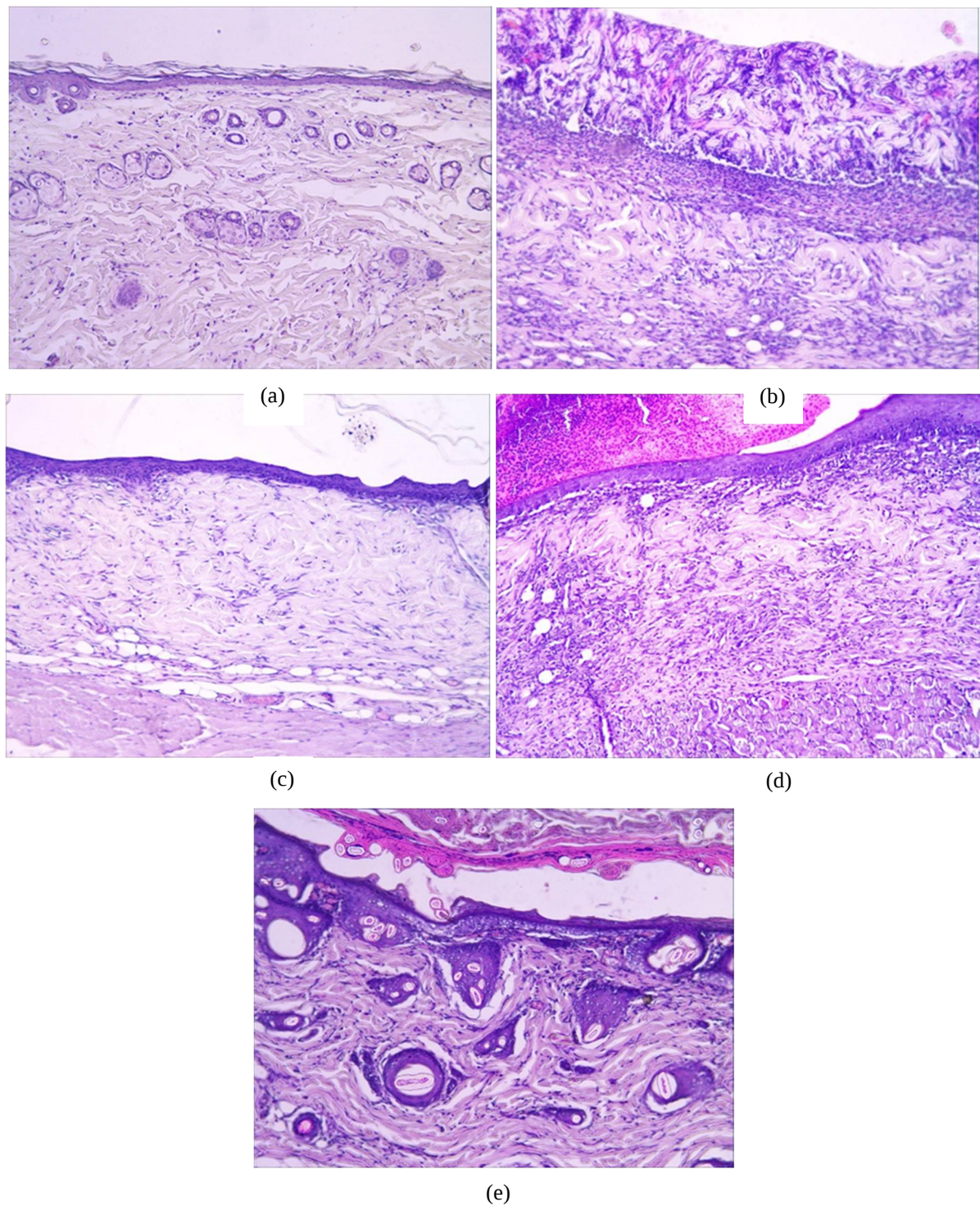
Etik penelitian ini disetujui oleh KEPK (Komisi Etik Penelitian Kesehatan) Universitas dr. Soebandi, dengan nomer registrasi No.201/KEPK/UDS/VIII/2021.

HASIL

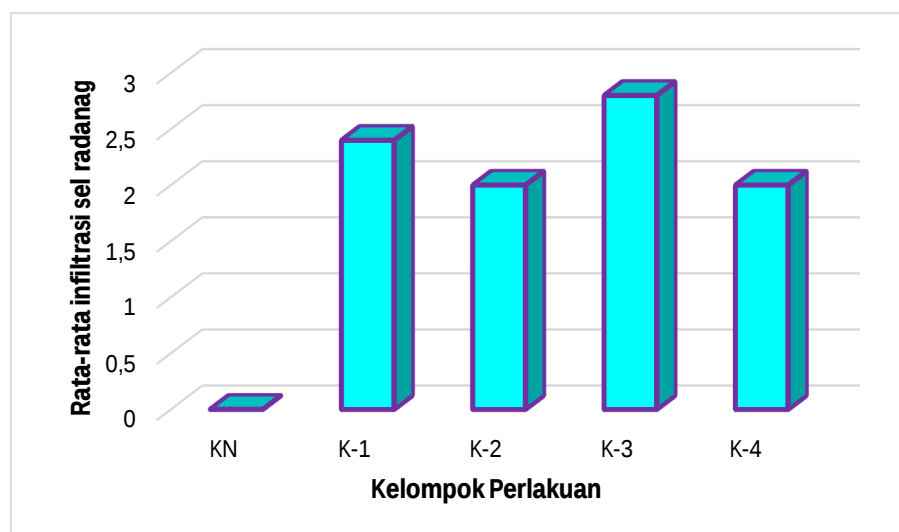
Hasil pemeriksaan secara mikroskopis menunjukkan bahwa terjadinya respon inflamasi di daerah dermis dan epidermis, hal ini menunjukkan bahwa adanya infiltrasi sel radang ke daerah luka. Jumlah infiltrasi sel radang ke daerah luka dermis berbeda beda disetiap perlakuan yaitu KN, K-1, K-2, K-3, dan K-4 (Gambar 3). Sampel yang digunakan sebanyak 25 ekor tikus dengan skor minimal 0 dan maksimal 4.

Secara mikroskopis (skor infiltrasi sel radang) menunjukkan bahwa terjadi perbedaan antar masing-masing perlakuan. Pada kontrol negatif tidak ada infiltrasi sel radang, karena pada KN (Gambar 3a) tidak terjadi kerusakan jaringan kulit (skoring 0). Pada kelompok perlakuan yaitu K-1, K-2, K-3, K-4, terdapat infiltrasi sel radang di jaringan kulit bagian dermis, hal ini dikarenakan adanya kerusakan jaringan kulit akibat luka bakar, sehingga menarik sel radang ke tempat kerusakan dan terjadi peningkatan infiltrasi sel radang. Namun, infiltrasi sel radang berbeda setiap perlakuan. pada kelompok K-1 (Gambar 3b) terjadi infiltrasi sel radang di seluruh jaringan (skor 4). Pada kelompok K-2 (Gambar 3c) terjadi infiltrasi sel radang fokal (skoring 2). Pada kelompok K-3 (Gambar 3d) terjadi infiltrasi sel radang di seluruh jaringan (skoring 4), dan pada K-4 (Gambar 3e) terjadi infiltrasi sel radang fokal (skoring 2).

Berdasarkan hasil uji statistika (Gambar 4) menunjukkan bahwa tidak terjadi perbedaan antar tiap kelompok ($P > 0,05$) namun terdapat selisih antar kelompok tersebut. Kelompok K-1 terhadap kelompok K-2 ($0,521 > 0,05$, rata-rata 2,4-2), kelompok K-1 terhadap kelompok K-3 ($0,572 > 0,05$, rata-rata 2,4-2,8), Kelompok K-1 terhadap kelompok K-4 ($0,521 > 0,05$, rata-rata 2,4-2), Kelompok K-2 terhadap kelompok K-3 ($0,277 > 0,05$, rata-rata 2-2,8), kelompok K-2 terhadap kelompok K-4 ($1,000 > 0,05$, rata-rata 2-2), dan yang terakhir kelompok K-3 terhadap kelompok K-4 ($0,277 > 0,05$, rata-rata 2,8-2).



Gambar 3. Perbedaan infiltrasi sel radang setiap perlakuan. (a) kontrol negatif (tanpa perlakuan), (b) luka bakar + placebo (vaselin), (c) luka bakar + silfer sulfadiazine, (d) luka bakar + madu trigona 50%, dan (e) luka bakar + madu trigona 100% (perbesaran 100x).



Gambar 4. Grafik rata-rata infiltrasi sel radang di tiap kelompok (Analisa statistik Kruskal wallis, nilai sig. 95%, dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*)

PEMBAHASAN

Luka bakar adalah luka yang disebabkan oleh energi panas, sehingga menyebabkan kerusakan pada kulit dan menyebabkan terjadinya denaturasi protein⁽¹¹⁾. Sel yang stres dan rusak akibat luka bakar akan mengaktifasi sinyal MAPK dan memproduksi sitokin proinflamasi yaitu IL1, IL6, IL8, dan TNF- α ⁽¹²⁾. Sitokin tersebut dapat menginduksi masuknya sel radang dari pembuluh darah menuju jaringan yang rusak. IL-1 β bersama dengan IL-6 dan TNF- α mengaktifkan sel radang atau sel leukosit dan menarik ke tempat terjadinya kerusakan di area luka⁽¹³⁾. Migrasinya sel radang dari pembuluh darah ke dalam jaringan yang mengalami kerusakan, menyebabkan penumpukan sel radang di jaringan tersebut, Kerusakan yang diakibatkan oleh luka bakar akan menyebabkan peningkatan jumlah sel radang (terutama neutrofil) menuju tempat kerusakan⁽¹⁴⁾ (Gambar 3b-3e). Migrasinya sel radang ke jaringan bertujuan untuk membersihkan bakteri di area luka dan membentuk lingkungan yang mendukung untuk proses penyembuhan luka⁽¹²⁾. Berbanding terbalik dengan kontrol negatif (tanpa perlakuan) (Gambar 3a), pada kelompok tersebut tidak adanya infiltrasi sel radang, dikarenakan tidak adanya kerusakan sel yang terjadi di area luka, tidak adanya molekul atau protein yang menginduksi system imunitas di dalam tubuh, menyebabkan tidak akan memicu produksi sitokin proinflamasi, diantaranya IL-1 β , IL-6, IFN- γ , dan tumor necrosis factor (TNF- α)^(3,15).

Pencegahan yang dilakukan ketika terjadinya luka bakar adalah dengan pemberian silver sulfadiazine (SSD). SSD merupakan obat standar yang digunakan untuk perawatan dan antimikrobal luka bakar⁽¹⁶⁾. SSD juga dapat mencegah infeksi dan mengurangi terjadinya sepsis pada luka bakar^(17,18). Pada kelompok yang diberikan SSD menunjukkan bahwa terdapat infiltrasi sel radang, namun, jumlahnya menurun (Gambar 3c) jika dibanding dengan kelompok kontrol positif (Gambar 3b), penurunan tersebut disebabkan oleh mekanisme SSD yaitu yaitu neutropenia. Neutropenia adalah penurunan sel neutrofil yang bersirkulasi di dalam darah, kadar neutrofil pada neutropenia adalah di bawah $1,5 \times 10^9/L$ ⁽¹⁹⁾. Hal tersebut disebabkan karena silver sulfadiazine dapat menekan produksi neutrofil di bone marrow (sumsum tulang)⁽²⁰⁾. Penekanan produksi neutrofil dilakukan dengan meningkatkan produksi immature neutrophil (neutrofil tidak matang) dalam bentuk band (dilihat pada apusan darah)⁽²¹⁾. Selain itu, SSD juga dapat menurunkan sitokin proinflamasi, salah satunya adalah TNF- α .

Pada penelitian kami menggunakan madu *Trigona* sp, namun dari hasil analisa statistik menggunakan *independent t test*, tidak ada perbedaan baik madu konsentrasi 50% ataupun 100% jika dibandingkan dengan kontrol positif dan luka bakar + silver sulfadiazine. Namun, secara fisiologis terdapat perbedaan antar perlakuan. Kelompok luka bakar + terapi trigona 50% dan kelompok luka bakar + terapi trigona 100%, memiliki jumlah infiltrasi sel radang yang berbeda, hasil skoring menunjukkan bahwa infiltrasi sel radang pada kelompok K-5 lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok K-4 (Gambar 3d dan 3e). Kelompok K-4 (luka bakar + terapi trigona 50%) jumlah infiltrasi sel radang hampir sama dengan kelompok K-2 yaitu luka bakar + placebo, respon tersebut menunjukkan bahwa pada dosis terapi madu trigona 50% belum mampu menghambat infiltrasi sel radang ke tempat kerusakan. Penurunan infiltrasi sel radang pada kelompok K-5 (luka bakar + terapi trigona 100%) (Gambar 3e) dikarenakan madu trigona mengandung senyawa flavonoid dengan senyawa sekundernya adalah Quercetin. Quercetin memiliki efek anti-inflamasi yang kuat yang dapat menurunkan sitokin proinflamasi TNF- α ⁽²²⁾. Selain itu, senyawa fisetin juga berperan dalam respon anti-inflamasi. Senyawa fisetin dapat menekan aktivasi NF κ B, menekan ekspresi sitokin yaitu IL-1 β dan TNF- α serta menghambat infiltrasi sel neutrofil yang merupakan sel radang^(23,24).

Penekanan ekspresi sitokin ketika terjadinya luka bakar, menyebabkan sitokin yang berperan dalam proses migrasi sel radang dari pembuluh darah ke jaringan yang rusak menjadi berkurang, hal ini menyebabkan sedikitnya infiltrasi sel radang ke tempat kerusakan, yaitu di daerah dermis jaringan kulit.

KESIMPULAN

Pada penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa terjadinya luka bakar menyebabkan terjadinya kerusakan sel, sehingga tingginya respon inflamasi yang berkepanjangan dan berperan dalam menarik sel neutrofil ke tempat kerusakan, sehingga respon tersebut akan mengarah ke sepsis, dengan pemberian madu trigona 100% secara mikroskopis (skor infiltrasi sel radang) dapat menurunkan jumlah infiltrasi sel radang di jaringan kulit bagian dermis pada kulit yang mengalami luka bakar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jeschke MG, van Baar ME, Choudhry MA, Chung KK, Gibran NS, Logsetty S. Burn injury. *Nat Rev Dis Prim.* 2020;6(1).
2. Wardhana A, Basuki A, Prameswara ADH, Rizkita DN, Andarie AA, Canintika AF. The epidemiology of burns in Indonesia's national referral burn center from 2013 to 2015. *Burn Open.* 2017;1(2):67–73.
3. Julier Z, Park AJ, Briquez PS, Martino MM. Promoting tissue regeneration by modulating the immune system. *Acta Biomater.* 2017;53(June):13–28.
4. Pantalone D, Bergamini C, Martellucci J, Alemanno G, Bruscolo A, Maltinti G, et al. The role of DAMPs in burns and hemorrhagic shock immune response: Pathophysiology and clinical issues. review. *Int J Mol Sci.* 2021;22(13).
5. Relja B, Land WG. Damage-associated molecular patterns in trauma. *Eur J Trauma Emerg Surg.* 2020;46(4):751–75.
6. Lateef Z, Stuart G, Jones N, Mercer A, Fleming S, Wise L. The cutaneous inflammatory response to thermal burn injury in a Murine model. *Int J Mol Sci.* 2019;20(3).
7. Sygietowicz G, Sitkiewicz D. Molecular mechanisms of organ damage in sepsis: an overview. *Brazilian J Infect Dis.* 2020;24(6):552–60.
8. Zahra NN, Muliastari H, Andayani Y, Sudarma IM. Karakteristik Fisikokimia Ekstrak Madu Dan Propolis Trigona Sp. Asal Lombok Utara. *J Agrotek Ummat.* 2021;8(1):7.
9. Ranneh Y, Akim AM, Hamid HA, Khazaai H, Fadel A, Mahmoud AM. Stingless bee honey protects against lipopolysaccharide induced-chronic subclinical systemic inflammation and oxidative stress by modulating Nrf2, NF- κ B and p38 MAPK. *Nutr Metab.* 2019;16(1):1–17.
10. Agbaje M, Rutland CS, Maboni G, Blanchard A, Bexon M, Stewart C, et al. Novel inflammatory cell infiltration scoring system to investigate healthy and footrot affected ovine interdigital skin. *PeerJ.* 2018;2018(7).
11. Franck CL, Senegaglia AC, Leite LMB, De Moura SAB, Francisco NF, Ribas Filho JM. Influence of Adipose Tissue-Derived Stem Cells on the Burn Wound Healing Process. *Stem Cells Int.* 2019;2019.
12. Zhang K, Lui VCH, Chen Y, Lok CN, Wong KKY. Delayed application of silver nanoparticles reveals the role of early inflammation in burn wound healing. *Sci Rep.* 2020;10(1):1–12.
13. Boutens L, Mirea AM, van den Munckhof I, Doppenberg-Oosting M, Jaeger M, Hijmans A, et al. A role for TLR10 in obesity and adipose tissue morphology. *Cytokine.* 2018 Aug 1;108:205–12.
14. Navas A, Magaña-Guerrero FS, Domínguez-López A, Chávez-García C, Partido G, Graue-Hernández EO, et al. Anti-Inflammatory and Anti-Fibrotic Effects of Human Amniotic Membrane Mesenchymal Stem Cells and Their Potential in Corneal Repair. *Stem Cells Transl Med.* 2018;7(12):906–17.
15. El Ayadi A, Jay JW, Prasai A. Current approaches targeting the wound healing phases to attenuate fibrosis and scarring. *Int J Mol Sci.* 2020;21(3).
16. Adhya A, Bain J, Dutta G, Hazra A, Majumdar B, Ray O, et al. Healing of burn wounds by topical treatment: A randomized controlled comparison between silver sulfadiazine and nano-crystalline silver. *J Basic Clin Pharm.* 2015;6(1):29.
17. Lagziel T, Asif M, Born L, Quiroga LH, Duraes E, Slavin B, et al. Evaluating the Efficacy, Safety, and Tolerance of Silver Sulfadiazine Dressings Once Daily Versus Twice Daily in the Treatment of Burn Wounds. *J Burn Care Res.* 2021 Nov 1;42(6):1136–9.
18. Banerjee J, Seetharaman S, Wrice NL, Christy RJ, Natesan S. Delivery of silver sulfadiazine and adipose derived stem cells using fibrin hydrogel improves infected burn wound regeneration. *PLoS One.* 2019;14(6):1–22.
19. Donadieu J, Beaupain B, Fenneteau O, Bellanné-Chantelot C. Congenital neutropenia in the era of genomics: classification, diagnosis, and natural history. *Br J Haematol.* 2017;179(4):557–74.
20. Maghsoudi H, Monshizadeh S, Mesgari M. A Comparative Study of the Burn Wound Healing Properties of Saline-Soaked Dressing and Silver Sulfadiazine in Rats. *Indian J Surg.* 2011;73(1):24–7.
21. Jarrett F, Ellerbe S, Demling R. Acute leukopenia during topical burn therapy with silver sulfadiazine. *Am J Surg.* 1978;135(6):818–9.
22. Chekalina N, Burmak Y, Petrov Y, Borisova Z, Manusha Y, Kazakov Y, et al. Quercetin reduces the transcriptional activity of NF- κ B in stable coronary artery disease. *Indian Heart J.* 2018;70(5):593–7.
23. Hosseinzade A, Sadeghi O, Biregani AN, Soukhtehzari S, Brandt GS, Esmailzadeh A. Immunomodulatory effects of flavonoids: Possible induction of T CD4⁺ regulatory cells through suppression of mTOR pathway signaling activity. *Front Immunol.* 2019;10(JAN):1–12.
24. Lim H, Heo MY, Kim HP. Flavonoids: Broad spectrum agents on chronic inflammation. *Biomol Ther.* 2019;27(3):241–53.