

Perbandingan Efektivitas Ekstrak Propolis Dalam Menghambat Pertumbuhan Pertumbuhan Bakteri Gram Positif (*Staphylococcus aureus*) dan Gram Negatif (*Escherichia coli*) Secara *In Vitro*

Etty Apriliana¹, Agustyas Tjiptaningrum², Retno Julianingrum³

¹Bagian Mikrobiologi dan Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

³Mahasiswa, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Pengobatan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan antibiotik sudah mulai mengalami resistensi, sehingga sejumlah upaya telah dilakukan untuk mengembangkan alternatif. Ekstrak propolis yang mengandung senyawa flavonoid, CAPE, dan asam fenolat merupakan salah satu bahan alam yang memiliki banyak manfaat, salah satunya memiliki sifat antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah melihat perbedaan daya hambat ekstrak propolis terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Ekstrak propolis dibagi menjadi 5 konsentrasi (konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%) dengan propilen glikol sebagai pengencer. Pengujian daya hambat menggunakan metode *disk diffusion Kirby-Bauer* dengan empat kali pengulangan. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif *Staphylococcus aureus*, seftriakson sebagai kontrol positif *Escherichia coli* dan aquades sebagai kontrol negatif. Pada hasil penelitian konsentrasi yang efektif dari ekstrak propolis untuk *Staphylococcus aureus* adalah 100% dengan *mean* 8,625 mm dan tidak terdapat zona hambat untuk *Escherichia coli*. Ekstrak propolis memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* tetapi tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci: daya hambat pertumbuhan, ekstrak propolis, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

Comparison Of Effectiveness Of Propolis Extract Against Gram Positive Bacteria (*Staphylococcus aureus*) and Gram Negative Bacteria (*Escherichia coli*) *In Vitro*

Abstract

Treatment of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria with antibiotics have developed resistance, many efforts have been made to develop alternatives. Propolis extract that contains flavonoids, CAPE, and phenolic acids is one of the natural ingredients that has many benefits, one of which has antibacterial effect. The purpose of this study is to see the differences in inhibition of propolis extract against the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. Propolis extract is divided into 5 concentrations (100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%) with propylene glycol as the diluent. The inhibition method is using the *Kirby-Bauer* diffusion disk method with four repetitions. Amoxicillin is used as the positive control of *Staphylococcus aureus*, ceftriaxone as the positive control of *Escherichia coli* and aquades as the negative control. In the results of the study the effective concentration of propolis extract for *Staphylococcus aureus* is 100% with the mean 8,625 mm and there is no inhibition zone for *Escherichia coli*. Propolis extract has a inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* but does not have a inhibitory effect on *Escherichia coli* bacteria.

Key words: *Escherichia coli*, growth inhibition, propolis extract, *Staphylococcus aureus*

Korespondensi: Retno Julianingrum, alamat Sumatera Selatan, HP 082186861998, email: retnojulya@gmail.com

Pendahuluan

Bakteri merupakan organisme yang sangat adaptif karena regenerasinya memerlukan waktu yang singkat dan mempunyai kecenderungan melakukan pertukaran informasi genetika. Bakteri yang resistensi akibat penggunaan antibiotika menimbulkan masalah yang baru, karena bakteri ini tahan terhadap antibiotika yang telah dipakai tersebut, dan resistensi bakteri ini sulit untuk ditangani.

Ancaman penyakit dari strain bakteri yang patogen dan resisten terhadap antibiotik telah meningkat dalam beberapa tahun terakhir ini. Beberapa bakteri yang telah mengalami resistensi diantaranya adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Penelitian di RSUD dr. Moewardi periode Agustus-Oktober 2012 menyebutkan bahwa pola bakteri *S. aureus* dengan persentase 30,19% yang diisolasi dari spesimen pus telah resisten terhadap beberapa

antibiotik, khususnya terhadap amoksisilin (93,75%) dan tetrasiklin (87,5%).¹

Resistensi *Escherichia coli* terhadap berbagai antibiotik telah banyak dilaporkan. Golongan *Enterobacteriaceae* telah banyak yang resisten terhadap golongan β -laktam, fosfomisin, dan golongan kuinolon.² Pada penelitian yang dilakukan oleh Sidjabat dan Paterson (2015), bakteri *Escherichia coli* telah menjadi multiresisten terhadap berbagai jenis β -laktam.³

Hasil penelitian *Antimicrobial Resistant in Indonesia (AMRIN-Study)* terbukti dari 2494 individu di masyarakat, 43% bakteri *Escherichia coli* resisten terhadap berbagai jenis antibiotik antara lain : ampicilin (34%), kotrimoksazol (29%) dan kloramfenikol (25%). Hasil penelitian pada tahun 2000-2004, dari 781 pasien yang dirawat di RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan RSUP dr. Kariadi Semarang didapatkan 81% *Escherichia coli* resisten terhadap berbagai jenis antibiotik, yaitu ampicilin (73%), kotrimoksazol (56%), kloramfenikol (43%), siprofloksasin (22%), dan gentamisin (18%).⁴

Sejumlah upaya telah dilakukan untuk mengembangkan alternatif yang sesuai untuk mengatasi dampak yang merugikan dari penggunaan antibiotik. Propolis merupakan salah satu bahan alam yang telah dibuktikan memiliki banyak manfaat, salah satunya memiliki sifat antibakteri.

Telah banyak dilakukan penelitian di bidang kesehatan terhadap propolis, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Salah satu penelitian menunjukkan bahwa propolis memiliki beberapa aktivitas biologis dan farmakologis, antara lain: 1) bersifat antibakteri baik terhadap bakteri gram negatif; 2) bersifat antiinflamasi; 3) memiliki aktivitas antijamur, terutama terhadap spesies dermatofita dan kandida; 4) propolis meningkatkan regenerasi jaringan tulang dan kartilago, dan 5) propolis bersifat antioksidan karena mampu menangkap radikal bebas.⁵

Berdasarkan atas informasi ilmiah mengenai aktivitas ekstrak propolis sebagai antibakteri, maka perlu dilakukan uji efektivitas antibakteri ekstrak propolis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *E.coli* dan membandingkan daya hambatnya pada kedua bakteri tersebut.

Metode

Jenis penelitian ini berupa penelitian observasional laboratorik dengan desain *cross sectional*, dimana pengaruh perlakuan pada kelompok perlakuan diukur dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol dan tidak dilakukan pretest.^{6,7}

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung pada bulan Agustus 2018-Januari 2019. Bakteri uji didapatkan Laboratorium Kesehatan Lampung. Bahan uji penelitian yakni propolis dengan merk X.

Konsentrasi ekstrak yang didapatkan adalah konsentrasi 100% yang selanjutnya dilakukan pengenceran dengan menggunakan pelarut propilen glikol menjadi berbagai konsentrasi yaitu 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%.

Pada penelitian ini menggunakan 2 kelompok kontrol yaitu cakram antibiotik amoksisilin sebagai kontrol positif bakteri *Staphylococcus aureus*, cakram antibiotik seftriakson sebagai kontrol positif bakteri *Escherichia coli* dan aquades sebagai kontrol negatif. Dengan demikian, pada penelitian ini didapatkan total 7 kelompok perlakuan.

Berdasarkan hasil perhitungan, besar sampel pengulangan yang dibutuhkan adalah 3,5 dan dibulatkan menjadi 4 kali pengulangan. Metode yang digunakan untuk menghitung diameter zona hambat adalah metode *disk diffusion Kirby-Bauer* dengan merendam cakram steril kosong ke dalam berbagai konsentrasi ekstrak selama 20 menit. Selanjutnya cakram steril kosong ditanam ke dalam media MHA yang sudah diinokulasikan bakteri uji. Media kemudian diinkubasi dengan menggunakan inkubator selama 24 jam. Daerah bening yang terbentuk diluar kertas cakram diidentifikasi sebagai zona hambat pertumbuhan bakteri.

Analisis bivariat dilakukan dengan uji normalitas dan uji hipotesis. Untuk uji normalitas data, akan digunakan uji *Shapiro-Wilk* karena besar sampel kurang dari lima puluh. Dan untuk uji hipotesis, dilakukan uji alternatif *One way-Anova*, yaitu uji *Kruskal Wallis*, dengan uji *Post Hoc Mann Whittney*.

Penelitian ini telah lolos kaji etik oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas

Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor 5151/UN26.18/PP.05.02.00/2018.

Hasil

Uji daya hambat ekstrak propolis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan rerata zona hambatekstrak propolis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada konsentrasi 100% didapatkan rerata zona hambat sebesar 8,625 mm, konsentrasi 50% (450 mg/ml), konsentrasi

Tabel 1. Zona Hambat Pada *Staphylococcus aureus*

Pengulangan	Diameter Zona Hambat (mm)						Kontrol (-)
	100 % (900 mg/ml)	50% (450 mg/ml)	25% (225 mg/ml)	12,5% (56,25 mg/ml)	6,25% (28,125 mg/ml)	Kontrol (+)	
1	8,55	7,40	7,40	6,60	5,60	10,80	0
2	8,70	7,60	7,20	6,50	5,50	10,75	0
3	8,65	7,40	7,20	6,60	5,55	10,75	0
4	8,60	7,50	7,15	5,20	5,55	10,70	0
Rerata	8,625	7,475	7,2375	6,225	5,55	10,75	0
Median	8,625	7,45	7,20	6,55	5,55	10,75	0
Standar deviasi	6,45	9,56	11,09	6,84	4,08	4,08	0
Nilai minimum	8,55	7,40	7,15	5,20	5,50	10,70	0
Nilai maksimum	8,70	7,60	7,40	6,60	5,60	10,80	0

25% (225 mg/ml) didapatkan rerata 7,2375mm, konsentrasi 12,5% (112,5 mg/ml) didapatkan rerata 6,225 mm, dan pada konsentrasi 6,25% (56,25 mg/ml) didapatkan rerata 5,55 mm. Uji daya hambat ekstrak propolis terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan rerata zona hambatekstrak propolis terhadap bakteri *Escherichia coli*. Pada semua konsentrasi didapatkan rerata zona hambat sebesar 0mm, dimana tidak terdapat zona hambat bakteri *Escherichia coli* oleh ekstrak propolis.

Tabel 2. Zona Hambat Pada *Escherichia coli*

Pengulangan	Diameter Zona Hambat (mm)						Kontrol (-)
	100 % (900 mg/ml)	50% (450 mg/ml)	25% (225 mg/ml)	12,5% (56,25 mg/ml)	6,25% (28,125 mg/ml)	Kontrol (+)	
1	8,55	7,40	7,40	6,60	5,60	10,80	0
2	8,70	7,60	7,20	6,50	5,50	10,75	0
3	8,65	7,40	7,20	6,60	5,55	10,75	0
4	8,60	7,50	7,15	5,20	5,55	10,70	0
Rerata	8,625	7,475	7,2375	6,225	5,55	10,75	0
Median	8,625	7,45	7,20	6,55	5,55	10,75	0
Standar deviasi	6,45	9,56	11,09	6,84	4,08	4,08	0
Nilai minimum	8,55	7,40	7,15	5,20	5,50	10,70	0
Nilai maksimum	8,70	7,60	7,40	6,60	5,60	10,80	0

Setelah itu dilakukan uji homogenitas data, dan didapatkan hasil $p < 0,05$, dimana data yang didapatkan tidak homogen, oleh sebab itu data tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik dan dilakukan uji alternatif yaitu uji *Kruskal Wallis*. Pada uji statistik *Kruskal Wallis* didapatkan nilai $p < 0,05$ ($p = 0,00$), dimana terdapat perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi.

Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan, dilakukan uji *Post Hoc*. Uji *Post Hoc* yang digunakan pada uji *Kruskal Wallis* adalah uji *Post Hoc Mann-Whitney*. Hasil analisis uji *Post Hoc Mann-Whitney Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada tabel 3.

Tabel 3. Uji *Post Hoc Mann-Whitney Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)		p
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	
100 % (900 mg/ml)	8,625	0	0,00
50% (450 mg/ml)	7,475	0	0,00
25% (450 mg/ml)	7,2375	0	0,00
12,5% (112,5 mg/ml)	6,225	0	0,00
6,25% (56,25 mg/ml)	5,55	0	0,00

Berdasarkan tabel 3, didapatkan $p = 0,00$, yang berarti bahwa terdapat perbedaan rerata yang signifikan pada diameter zona hambat dengan konsentrasi yang sama antara bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak propolis memiliki perbedaan daya hambat antara kedua

bakteri, dimana ekstrak propolis memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, tetapi tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Hasil analisis uji *Post Hoc Mann-Whitney* konsentrasi propolis terhadap kontrol positif dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji *Post Hoc Mann-Whitney* Konsentrasi Propolis Terhadap Kontrol Positif

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)		p
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Kontrol (+)	
100 % (900 mg/ml)	8,625	10,75	0,00
50% (450 mg/ml)	7,475	10,75	0,00
25% (450 mg/ml)	7,2375	10,75	0,00
12,5% (112,5 mg/ml)	6,225	10,75	0,00
6,25% (56,25 mg/ml)	5,55	10,75	0,00

Berdasarkan tabel 4 didapatkan hasil $p = 0,00$, yang berarti bahwa terdapat perbedaan rerata yang signifikan pada diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* oleh ekstrak propolis pada tiap konsentrasi dengan kontrol positif amoksisilin,

Hal ini menunjukkan bahwa daya hambat bakteri oleh ekstrak propolis tidak sebesar daya hambat yang diberikan oleh amoksisilin.

Pembahasan

Pada penelitian ini didapatkan hasil diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus*, pada konsentrasi 100% didapatkan rerata 8,625 mm, konsentrasi 50% (450 mg/ml) didapatkan rerata 7,475 mm, konsentrasi 25% (225 mg/ml) didapatkan rerata 7,2375 mm, konsentrasi 12,5% (112,5 mg/ml) didapatkan rerata 6,225 mm, dan pada konsentrasi 6,25% (56,25 mg/ml) didapatkan rerata 5,55 mm. Sedangkan pada bakteri *Escherichia coli*, didapatkan rerata 0 mm pada semua konsentrasi (100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%).

Analisis bivariat dilakukan dengan membandingkan rerata zona hambat kedua bakteri yang didapat pada setiap konsentrasi yang sama, yaitu rerata zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan rerata zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* pada masing masing konsentrasi. Hasil analisis bivariat didapatkan hasil $p < 0,05$ pada setiap konsentrasi, yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pengaruh ekstrak propolis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Faktor-faktor yang mempengaruhi efektivitas antibakteri dalam uji aktivitas antibakteri secara *in vitro* yakni: populasi bakteri, konsentrasi antibakteri, komposisi media kultur, nilai pH medium, waktu inkubasi, temperatur, lingkungan sekitar bakteri, dan jenis bakteri yang diuji.⁸ Berkaitan dengan faktor jenis bakteri yang diuji, *Staphylococcus aureus* termasuk golongan Gram positif, sedangkan *Escherichia coli* termasuk golongan Gram negatif. Hal ini sesuai dengan penelitian Silva, Rodrigues, Feás *et al.*, (2012) yang menyatakan bahwa propolis memiliki aktivitas yang lebih rendah terhadap bakteri Gram negatif daripada bakteri Gram positif.⁹ Hal ini dikarenakan karena struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang relatif kompleks, yang tersusun dari tiga lapisan yaitu lapisan luar lipopolisakarida, lapisan tengah lipoprotein dan lapisan dalam peptidoglikan sehingga senyawa antimikroba lebih sulit masuk ke dalam sel. Hasil penelitian serupa juga terdapat pada penelitian yang dilakukan oleh Yusuf, Djamal, Asterina pada tahun 2015, yang menunjukkan bahwa ekstrak propolis menghambat pertumbuhan bakteri

Staphylococcus aureus, tetapi tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*.¹⁰ Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Campos, Santos, Macorini *et al.*, pada tahun 2014 menunjukkan bahwa ekstrak propolis tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*.¹¹

Zat yang memiliki aktivitas antibakteri pada ekstrak propolis adalah flavonoid, CAPE, dan asam fenolat. Flavonoid bekerja dengan cara menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi flavonoid dengan DNA bakteri.⁵ CAPE bekerja dengan cara menghambat sintesis protein RNA, DNA, dan dinding sel, serta mensintesis oksigen reaktif yang menghancurkan membran luar dinding bakteri,¹² sedangkan asam fenolat bekerja dengan cara menurunkan tegangan permukaan sel mikroba. Gugus OH dari fenol dapat bersifat racun bagi protoplasma sel, dapat menembus dan merusak dinding sel serta mendenaturasi protein enzim dalam sitoplasma dengan membentuk ikatan hidrogen pada sisi aktif enzim.¹³

Suatu zat antibakteri memiliki aktivitas daya hambat lemah bila zona hambat yang terbentuk < 5 mm, 5-10 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat sedang, 10-20 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat kuat, dan > 20 mm dianggap memiliki aktivitas daya hambat sangat kuat.¹⁴ Berdasarkan kriteria tersebut, ekstrak propolis konsentrasi 100% (900 mg/ml), konsentrasi 50% (450 mg/ml), konsentrasi 25% (225 mg/ml), konsentrasi 12,5% (112,5 mg/ml), dan konsentrasi 6,25% (56,25 mg/ml) memiliki aktivitas daya hambat sedang terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian aktivitas antibakteri pada ekstrak propolis dapat disimpulkan bahwa ekstrak propolis memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* tetapi tidak lebih baik dari kontrol positifnya yaitu amoksisilin, dan tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Daftar Pustaka

1. Chudlori B, Kuswandi M, Indrayudha P. Pola kuman dan resistensinya terhadap antibiotika dari spesimen pus di RSUD dr.

- Moewardi tahun 2012. *Pharmacon*. 2012; 13(2):70-6.
2. Refdanita, Maksum R, Nurgani A, Endang P. Pola kepekaan kuman terhadap antibiotika di ruang rawat intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta tahun 2001 – 2002. *Makara, Kesehatan*. 2004; 8(2) : 41-8.
3. Sidjabat HE, Paterson DL. Multidrug-resistant *Escherichia coli* in Asia: epidemiology and management. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2015; 13(5): 575-91.
4. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik, dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406/Menkes/Per/XII/2011. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia; 2011.
5. Sabir A. Aktivitas antibakteri flavonoid propolis *Trigona sp.* terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro). *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*. 2005; 38(3):135–41.
6. Notoatmodjo S. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta; 2012.
7. Pratiknya AW. *Dasar-dasar metodologi penelitian kedokteran dan kesehatan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada; 2007.
8. Willey JM, Sherwood L, Woolverton CJ.. *Prescott's microbiology*. 8th ed. New York: McGraw-Hill Higher Education; 2011.
9. Silva JC, Rodrigues S, Feás X, Estevinho LM.. Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of propolis. *Food and Chemical Toxicology*. 2012; 50:1790-95.
10. Yusuf AB, Djamal A, Asterina. Perbedaan daya hambat bakteri dari propolis cair yang ada di pasaran terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2015; 4(3):841-44.
11. Campos JF, Santos UP, Macorini LFB, Melo AMM, Balestieri JB, Paredes-Gamero EJ, *et al.* Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities of propolis from *Melipona orbignyi* (Hymenoptera, Apidae). *Food and Chemical Toxicology*. 2014; 65: 374-80.
12. Lee HS, Lee SY, Park SH, Lee JH, Ahn SK, Choi YM *et al.* Antimicrobial medical sutures with caffeic acid phenethyl ester and their in vitro/in vivo biological assessment. *MedChemComm*. 2013; 4:777–82.
13. Agustina IQ. Pengaruh pemberian ekstrak propolis terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis* [skripsi]. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri; 2007.
14. Rita WS. Isolasi identifikasi dan ujiaktivitas antibakteri senyawa golongan triterpenoid pada rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Berg) Roscoe). *Jurnal Kimia*. 2010; 4:20-6.