



**UJI DAYA ANTIBAKTERIAL EKSTRAK PROPOLIS  
TERHADAP BAKTERI *Streptokokus mutans* SECARA IN VITRO**

Judul :	Heri	Kelas
Penyusun :	Pramudita	617.63
Tahun : 1	2008	
SKRIPSI oleh :		
Pengkatalog :		

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

**Amelia Dyah Pramudita**  
0416101015

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2008**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, atas segala petunjuk, hidayah, rahmat dan ridho-Nya yang menjadi penuntun dalam setiap langkah kehidupanku.
2. Ibunda tercinta drg. Hj. Nurhasana dan Ayahanda H. M. Suhdi Amir Skm.MM. Terima kasih atas doanya yang tulus dan tiada henti.
3. Adik-adikku tersayang Amanda dan Alicia atas segala doa, cinta, serta semangatnya.
4. Febri Wahyu yang selalu memberi motivasi dan semangat, terima kasih atas kesabaran dan pengertiannya selama ini.
5. Lexis yang saat itu selalu ada dan menghibur dengan segala tingkah manja dan lucunya.
6. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

**MOTTO**

“ Dan Dia-lah yang menjadikan kamu penguasa-penguasa di Bumi...”

(Q.S. Al-An'am ayat 6)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Amelia Dyah Pramudita

NIM : 041610101015

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul: " Uji Daya Antibakterial Ekstrak Propolis Terhadap Bakteri *Streptokokus mutans* Secara In Vitro" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 31 Oktober

Yang menyatakan,



Amelia Dyah Pramudita

NIM 041610101015

SKRIPSI



UJI DAYA ANTIBAKTERIAL EKSTRAK PROPOLIS  
TERHADAP BAKTERI *Streptokokus mutans* SECARA IN VITRO

Oleh

Amelia Dyah Pramudita  
041610101015

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Budi Sumarsetyo, Sp.BM

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Abdul Rochim, M.kes. MMR

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Daya Antibakterial Ekstrak Propolis Terhadap Bakteri *Streptokokus mutans* Secara In Vitro” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

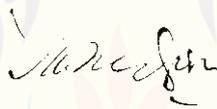
hari : Jumat

tanggal: 31 Oktober 2008

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim penguji:

Ketua.



drg. Budi Sumarsetyo, Sp.BM.

NIP 140 146 683

Anggota I,

Anggota II,



drg. Abdul Rochim, M.kes, MMR.

NIP 131 692 724



drg. Hengky Bowo Ardhianto

NIP 132 315 512

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi



drg. H. Hemiyati, M.Kes.

NIP 131 479 783

## RINGKASAN

Uji Daya Antibakterial Ekstrak Propolis Terhadap Bakteri *Streptokokus mutans* Secara In Vitro; Amelia Dyah Pramudita, 041610101015; 2008; 31 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Beberapa tahun belakangan ini, produk-produk alami banyak digunakan untuk pengobatan. Salah satunya adalah propolis atau lem lebah yang mengandung flavonoid yang bersifat antibakteri. Bakteri *S.mutans* merupakan flora normal rongga mulut. Tetapi bila lingkungan berubah misalnya terjadi trauma yang umumnya terjadi pada klinik bedah mulut, dapat terjadi peningkatan populasi sehingga *S.mutans* dapat berubah patogen. Salah satu cara pengendalian jumlah bakteri agar tidak menjadi patogen adalah pemberian bahan yang memiliki daya antibakterial. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya antibakterial ekstrak propolis dengan berbagai konsentrasi (100%, 50%, 25%, dan 12.5%) yang diambil dari daerah Jawa Timur terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*.

Penelitian ini menggunakan sampel ekstrak propolis konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, povidon iodine 1% dan aquadest steril yang ditetaskan pada paper disc lingkaran berdiameter 5mm. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris, dilakukan pada bulan April 2008 di lab. Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi dan lab. Biologi Program Studi Farmasi Universitas Jember. Pengamatan dan pengukuran zona hambat dilakukan setelah 24 jam. Kemudian data dianalisa dengan uji Anova satu arah yang hasilnya terdapat perbedaan bermakna antar kelompok dengan  $p < 0,05$ . Untuk mengetahui perbedaan pada masing-masing kelompok dilanjutkan dengan uji LSD dengan hasil berbeda bermakna, kecuali pada kelompok ekstrak propolis 25% dengan Povidon Iodine 1%. Semua kelompok ekstrak propolis mampu menghambat pertumbuhan *Streptokokus mutans*, makin tinggi konsentrasi ekstrak propolis maka semakin besar zona hambatnya. Kesimpulan dari hasil penelitian dan pembahasan adalah Ekstrak propolis konsentrasi 100%, 50 %, 25 %, dan 12.5 % mampu menghambat pertumbuhan *Streptokokus mutans* dan yang memiliki daya hambat terbesar adalah kelompok ekstrak propolis konsentrasi 100%.

## PRAKATA

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah yang berjudul "Uji Daya Antibakterial Ekstrak Propolis Terhadap Bakteri *Streptokokus mutans* Secara In Vitro". Karya tulis ilmiah ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan karya tulis ilmiah ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tiada terhingga kepada:

1. drg. Hj. Herniyati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
2. drg. Budi Sumarsetyo, Sp.BM., selaku Dosen Pembimbing Utama, drg. Abdul Rochim, M.Kes. M.MR., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu dan pikiran serta perhatiannya guna memberikan bimbingan dan pengarahan, juga drg. Hengky Bowo Ardhiyanto selaku sekretaris tim penguji atas bimbingannya demi terselesainya penulisan skripsi ini.
3. drg. Rudy Joelijanto M.Biomed., selaku Dosen Pembimbing Akademik.
4. Staf Biomedik (Lab. Mikrobiologi) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Setyo Pinardi, A.Md, staf laboratorium biologi farmasi Program Studi Farmasi Universitas Jember yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini;
5. Kedua orang tua, Ibunda tercinta drg. Hj.Nurhasana dan Ayahanda H. M.Suhdi Amir SKM.MM., hanya ucapan terima kasih yang tulus yang dapat ananda haturkan atas segala tetesan keringat dan pengorbanan lahir batin serta doa yang tiada hentinya yang selalu mengiringi perjalanan ananda.

6. Adik-adikku Amanda dan Alicia atas segala dukungannya. Alm. Kakek Amir dan Iksan, serta nenekku Yumsiyah dan Astlika yang tiada henti-hentinya mendoakan ananda.
7. Febri Wahyu atas segala perhatian dan semangatnya selama ini.
8. Teman seperjuanganku Farhan, yeki dan sahabat-sahabatku, Dit, serta teman-teman angkatan 2004 serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terima kasih untuk kalian semua.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan penulisan skripsi ini, oleh karena itu penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat.

Jember, Oktober 2008

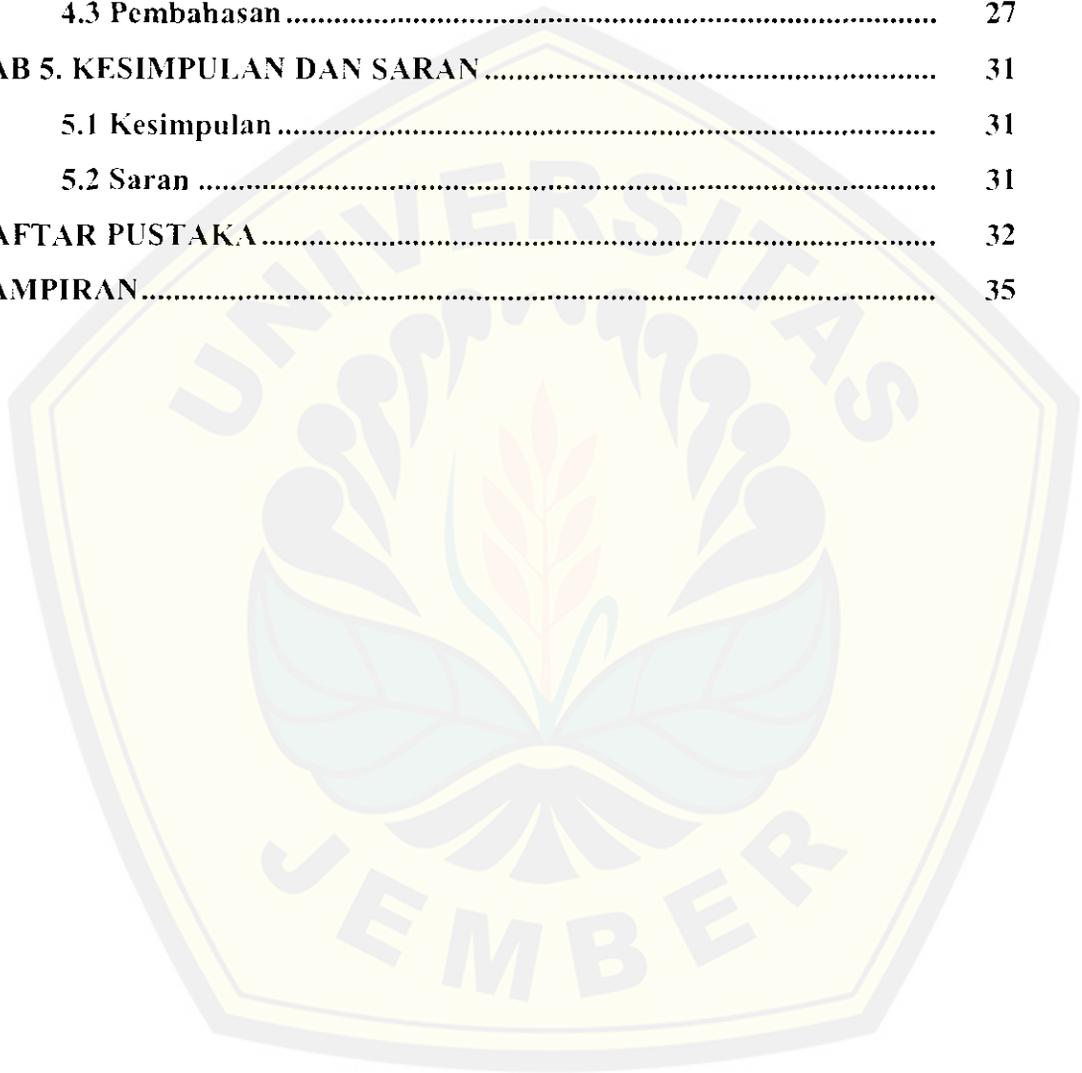
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	ii
HALAMAN MOTTO .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN .....	vii
PRAKATA .....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Propolis .....	4
2.1.1 komposisi dan manfaat propolis.....	4
2.2 <i>Streptokokus</i> .....	6
2.3 Klasifikasi <i>Streptokokus</i> .....	7
2.4 <i>Streptokokus mutans</i> .....	9
2.5 Aktivitas Antimikroba In Vitro.....	10

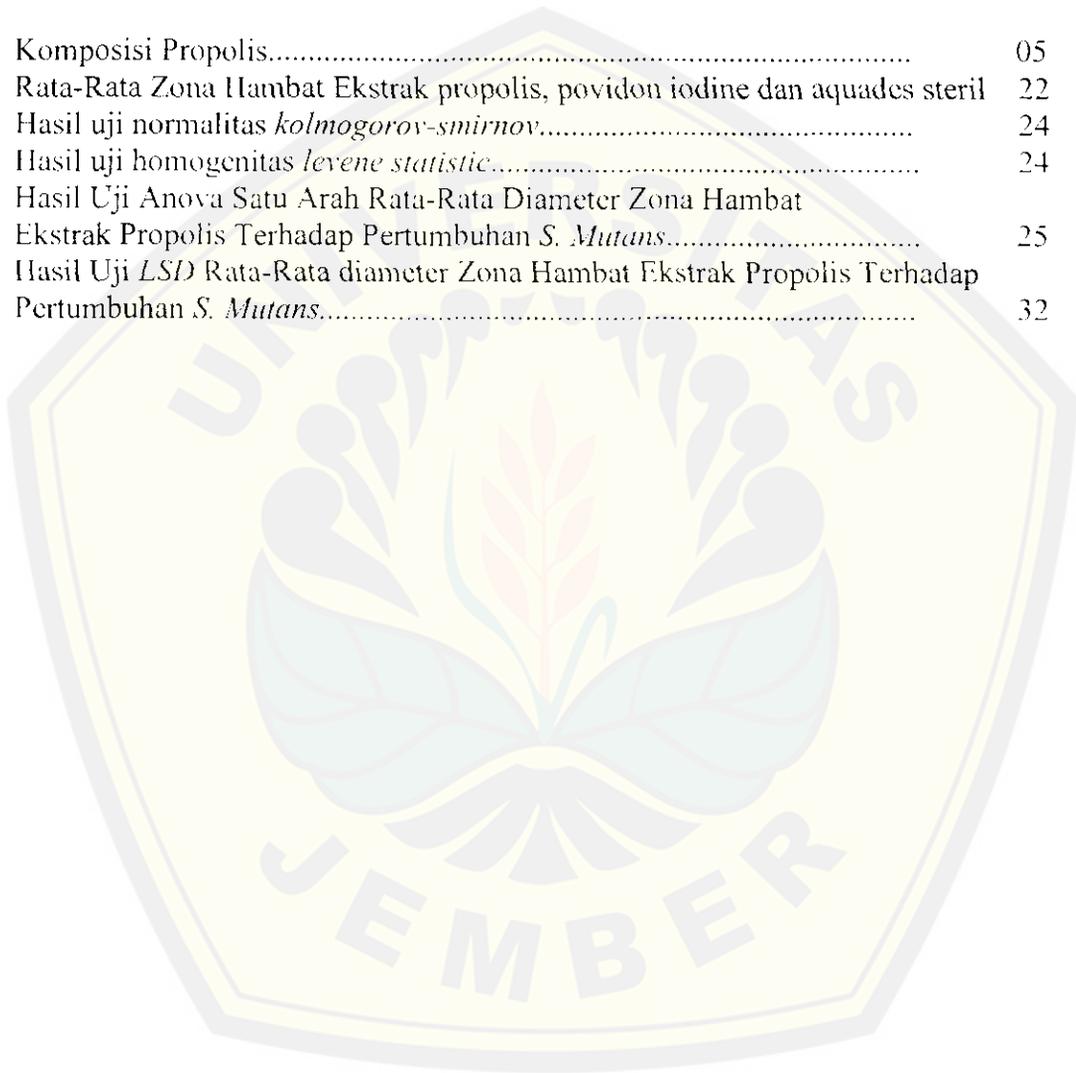
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>12</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>12</b>
<b>3.2 Tempat</b>	
<b>3.3 Waktu Penelitian.....</b>	<b>12</b>
<b>3.4 Variabel Penelitian.....</b>	<b>12</b>
3.4.1 Variabel Bebas .....	12
3.3.2 Variabel Terikat.....	12
3.3.3 Variabel Terkendali.....	12
<b>3.4 Definisi Operasional .....</b>	<b>13</b>
3.5.1 Konsentrasi ekstrak propolis 100%, 50%, 25%, dan 12,5%	13
3.5.2 Hambatan Pertumbuhan <i>S. Mutans</i> .....	13
<b>3.6 Alat dan Bahan.....</b>	<b>13</b>
3.6.1 Alat.....	13
3.6.2 Bahan .....	14
<b>3.7 Sampel Penelitian.....</b>	<b>14</b>
3.7.1 Jumlah Sampel Penelitian.....	14
3.7.2 Penggolongan Sampel Penelitian .....	15
<b>3.8 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>15</b>
3.8.1 Mensterilkan Alat.....	15
3.8.2 Mempersiapkan Cakram /Paper Disc.....	15
3.8.3 Mempersiapkan Lidi dan Kapas.....	15
3.8.4 Mempersiapkan Media.....	15
3.8.5 Mempersiapkan Suspensi <i>S. Mutans</i> .....	16
3.8.6 Mempersiapkan Ekstrak Propolis.....	16
3.8.7 Uji Daya Hambat Ekstrak Propolis Terhadap Pertumbuhan <i>S.Mutans</i> .....	17
<b>3.9 Analisa data .....</b>	<b>19</b>
<b>3.10 Skema Kerja Penelitian.....</b>	<b>20</b>

3.11 Hipotesis Penelitian.....	21
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>22</b>
4.1 Hasil Penelitian.....	22
4.2 Analisa Data.....	24
4.3 Pembahasan .....	27
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>31</b>
5.1 Kesimpulan .....	31
5.2 Saran .....	31
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>32</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>35</b>



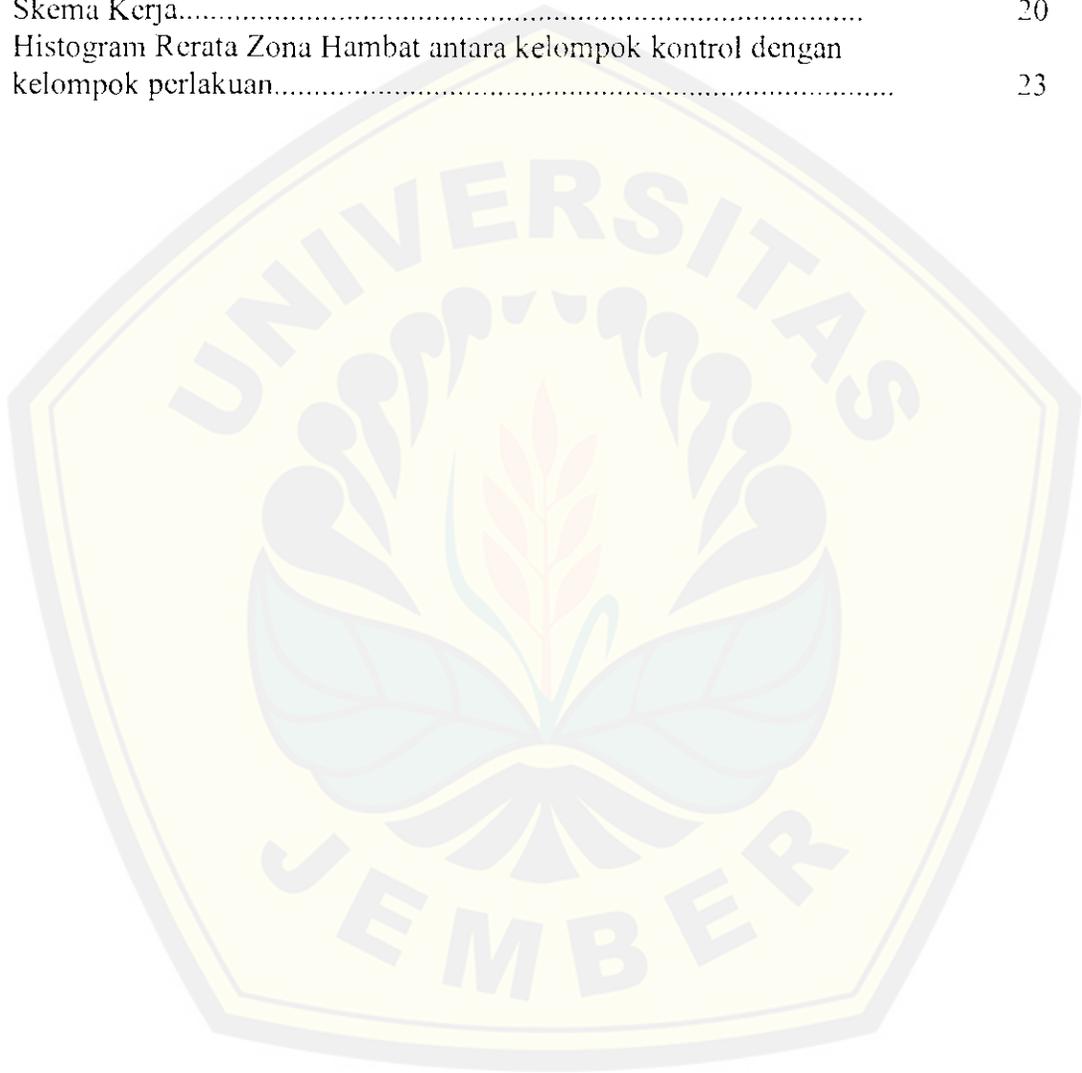
DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Komposisi Propolis.....	05
2. Rata-Rata Zona Hambat Ekstrak propolis, povidon iodine dan aquades steril	22
3. Hasil uji normalitas <i>kolmogorov-smirnov</i> .....	24
4. Hasil uji homogenitas <i>levene statistic</i> .....	24
5. Hasil Uji Anova Satu Arah Rata-Rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Propolis Terhadap Pertumbuhan <i>S. Mutans</i> .....	25
6. Hasil Uji <i>LSD</i> Rata-Rata diameter Zona Hambat Ekstrak Propolis Terhadap Pertumbuhan <i>S. Mutans</i> .....	32



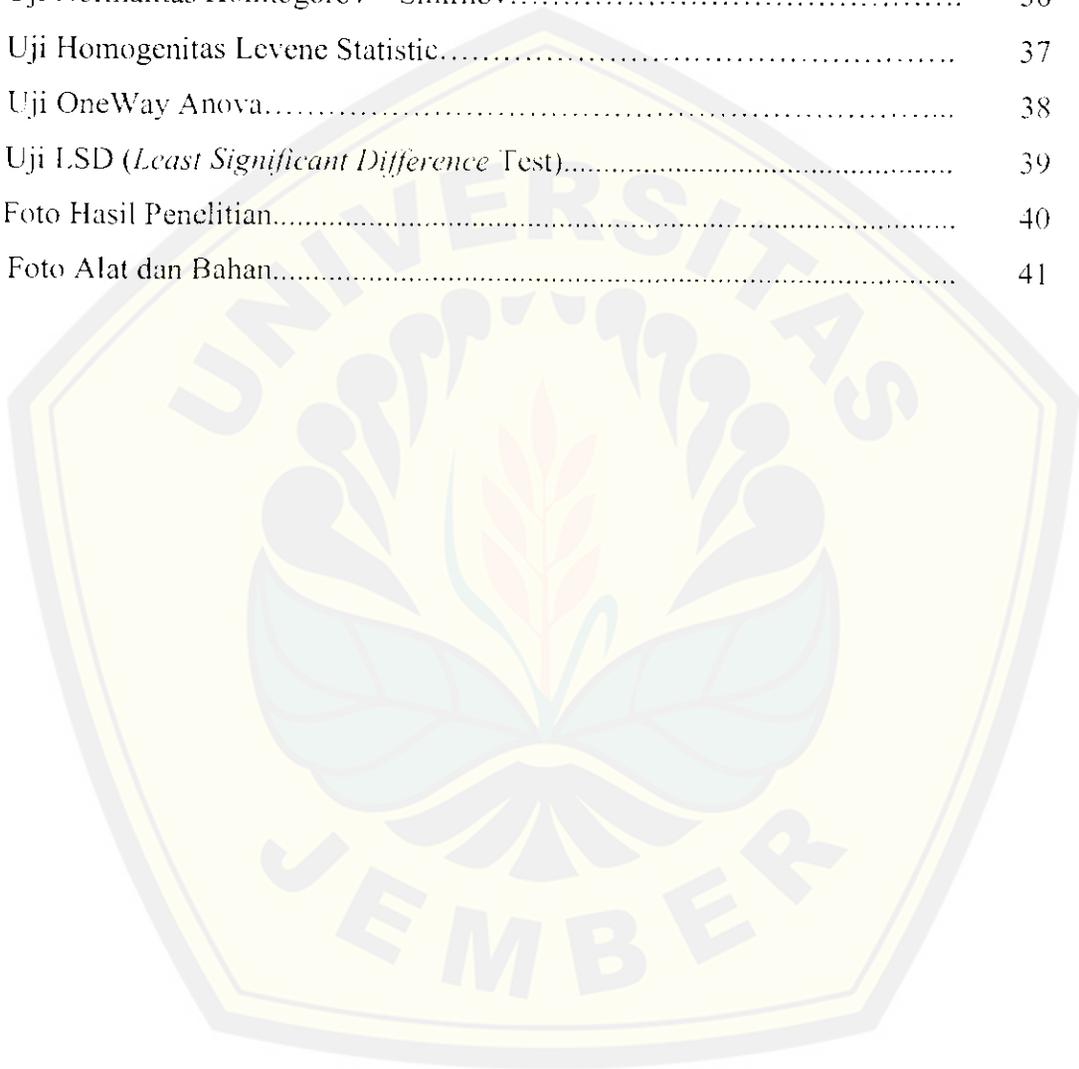
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Cara pengukuran zona hambat.....	18
2. Skema Kerja.....	20
3. Histogram Rerata Zona Hambat antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.....	23



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Data Pengamatan Hasil Penelitian.....	35
B. Uji Normalitas Kolmogorov – Smirnov.....	36
C. Uji Homogenitas Levene Statistic.....	37
D. Uji OneWay Anova.....	38
E. Uji LSD ( <i>Least Significant Difference Test</i> ).....	39
F. Foto Hasil Penelitian.....	40
G. Foto Alat dan Bahan.....	41





## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Rongga mulut manusia memiliki mikroflora yang menetap dengan komposisi dan karakteristiknya masing-masing. Salah satu mikroflora tersebut adalah bakteri yang hidup dengan harmonis dalam rongga mulut manusia. Terdapat beberapa jenis bakteri yang dapat berperan menjadi patogen oportunistik dalam rongga mulut manusia apabila habitatnya terganggu. Selain itu, bakteri juga dapat menjadi patogen apabila berada di tempat yang bukan habitat normalnya. Namun, penyakit-penyakit dental umumnya disebabkan oleh ketidakseimbangan jumlah bakteri yang menetap (Marsh and Martin, 1999).

Diantara bakteri yang hidup dalam rongga mulut, salah satunya adalah *Streptokokus* yang merupakan bakteri gram positif dan beberapa diantaranya merupakan mikroflora normal pada manusia. *Streptokokus* grup *viridans* yang salah satunya adalah *S mutans* adalah anggota flora normal yang paling umum pada saluran pernafasan bagian atas dan berperan penting untuk menjaga keadaan normal selaput mukosa. Salah satu spesies bakteri yang dominan dalam rongga mulut adalah *Streptokokus mutans* (*S. mutans*). Jenis bakteri ini diketahui merupakan bakteri penyebab utama timbulnya karies gigi (Lavelle, 1988).

Selain dapat menyebabkan karies gigi, *Streptokokus mutans* mampu mencapai aliran darah akibat suatu trauma misalnya pada pembedahan atau ekstraksi gigi dan menyebabkan endokarditis pada katup jantung yang abnormal. Hal ini didukung oleh Jawetz dkk (1996) yang menyatakan bahwa setelah pencabutan gigi, paling sedikit 30% penderita endokarditis subakut mengalami bakterimia *streptokokus* grup *viridans*. Sehingga dapat diketahui bahwa bakteri-bakteri ini dapat menyebabkan penyakit apabila terjadi ketidakseimbangan jumlah bakteri yang menetap. Dalam klinik bedah mulut sering terjadi trauma pada rongga mulut, sehingga untuk

mencegah terjadinya infeksi oleh bakteri maka salah satu jalan pencegahannya adalah pengendalian jumlah bakteri-bakteri ini agar tidak berubah menjadi patogen dengan bahan antiseptik atau bahan lainnya.

Beberapa tahun belakangan ini, untuk meningkatkan sistem imun terhadap patogenitas bakteri digunakan prebiotik, probiotik dan produk-produk alami. Prebiotik, probiotik dan produk-produk alami ini mampu meningkatkan imunitas tubuh manusia sehingga apabila terjadi patogenitas bakteri-bakteri, tubuh manusia tersebut sudah siap menanggulanginya sehingga antibiotik tidak terlalu perlu digunakan. Berbeda dengan antibiotik, produk-produk yang alami ini memiliki efek samping yang minimal. Indonesia adalah negara yang kaya akan hasil alamnya yang beragam, salah satunya adalah bahan flavonoid yang diproduksi secara alami dalam tanaman (Croft,1998) dan dapat ditemukan pula dalam produk hewan, salah satunya adalah lebah madu yang menghasilkan propolis. Beberapa alternatif pengobatan kemudian dipilih, biasanya yang lebih murah dan lebih mudah dijangkau masyarakat. Misalnya pengobatan tradisional dengan produk-produk hewan, yaitu produk lebah madu, seperti madu, royal jelly, dan propolis lebah yang diindikasikan memiliki kandungan flavonoid yang cukup tinggi sehingga propolis adalah produk alami lebah yang menunjukkan efek antimikrobal (Fochth dkk, 1993; Rao dkk 1992).

Propolis merupakan salah satu hasil alam yang diproduksi lebah madu, yang dikumpulkan oleh lebah pekerja dari sari bunga, tunas-tunas, kulit tumbuhan, cabang ataupun daun pohon (Kaal, 1991), sedangkan menurut Lin dkk (1997) propolis merupakan suatu kumpulan getah, resin, dan balsam yang mempunyai konsistensi liat atau kental. Lebah membawa propolis kembali ke sarangnya yang kemudian dimodifikasi dan dicampur dengan substansi lainnya termasuk lilin yang berasal dari lebah itu sendiri dan juga dari sekresi saliva lebah tersebut.

Salah satu kandungan senyawa kimia pada propolis adalah senyawa flavonoidnya (Ghisalberti, 1979). Efek antimikroba dari propolis berasal dari kandungan flavonoidnya yang tinggi (Wade,1982; Grange and Davey, 1990 ; Krol

dkk 1990). Selain itu, menurut Horax (1999) efek antibakteri dari propolis tergantung pada komposisinya dan daerah asal dari pengumpulan sampel-sampel propolis. Telah banyak dilakukan penelitian di luar negeri, yang telah membuktikan kandungan antibakteri propolis. Salah satu penelitian tersebut adalah penelitian Koo (1999) dan Park (1998) yang membuktikan ekstrak etanol propolis yang diambil dari daerah Brazil mampu menghambat aktivitas glukosiltransferase dan pertumbuhan *S. mutans*.

Karena kurangnya penelitian mengenai efek antibakterial pada propolis yang terdapat di Indonesia terutama di daerah Jawa Timur sehingga propolis kurang dimanfaatkan dalam masyarakat luas khususnya di daerah Jawa Timur, maka penulis tertarik untuk meneliti daya antibakterial propolis dengan berbagai konsentrasi terhadap bakteri yang dominan dalam rongga mulut yaitu *S. mutans* secara in vitro.

## 1.2 Perumusan Masalah

Perumusan masalah dari penelitian ini adalah, apakah ekstrak propolis lebah madu berbagai konsentrasi (100%, 50%, 25%, dan 12,5%) yang diambil dari daerah Jawa Timur memiliki daya antibakterial terhadap pertumbuhan *streptokokus mutans*?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya antibakterial ekstrak propolis dengan berbagai konsentrasi (100%, 50%, 25%, dan 12,5%) yang diambil dari daerah Jawa Timur terhadap pertumbuhan *streptokokus mutans*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi mengenai daya antibakterial propolis yang dikumpulkan dari daerah Jawa Timur dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans* sehingga dapat menjadi pedoman untuk penelitian selanjutnya mengenai ekstrak propolis Indonesia khususnya daerah Jawa Timur sebagai bahan antibakterial di bidang kesehatan khususnya bidang kedokteran gigi.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Propolis

Menurut Lin dkk (1997:40) propolis merupakan suatu kumpulan getah, resin, dan balsam yang mempunyai konsistensi liat atau kental. Lebah membawa propolis ke sarangnya, kemudian dimodifikasi dan dicampur dengan substansi lainnya termasuk lilin yang berasal dari lebah itu sendiri dan juga dari sekresi saliva lebah tersebut. Menurut Burdock (1998), propolis adalah bahan resin yang dikumpulkan oleh lebah madu dari berbagai macam tanaman, dimana telah lama digunakan sebagai obat anti inflamasi, dan antibakteri secara tradisional sejak beberapa abad yang lalu. Propolis merupakan salah satu hasil alam yang diproduksi lebah madu (*Apis Mellifera*), yang dikumpulkan oleh lebah pekerja dari sari bunga, tunas-tunas, kulit tumbuhan, cabang ataupun daun pohon. Lebah menggunakan propolis untuk menutupi keretakan sarangnya dan sebagai pelindung sarang lebah terhadap terhadap gangguan dari luar, sehingga larva lebah terlindung dari penyakit (Kaal, 1991).

Karena propolis juga mengandung minyak esensial, ini menyebabkan propolis bersifat aromatik. Propolis memiliki variasi dalam hal warna (dari kuning terang hingga coklat gelap/dark chestnut), rasa (pahit, sedikit pedas, maupun tawar/hambar), dan konsistensinya. Hal ini tergantung pada tanaman asal dan juga musim ketika propolis ini diambil (Krell, 1996).

#### 2.1.1 komposisi dan manfaat propolis

Efek antibakteri dari propolis tergantung pada komposisinya dan daerah asal dari pengumpulan sampel-sampel propolis (Horax, 1999). Pada kenyataannya, komposisi dari propolis itu sendiri memang kompleks dan bervariasi sesuai dengan perbedaan area geografis dari tempat propolis itu dikumpulkan (Marucci dkk, 2000). Penelitian pada 15 daerah yang berbeda di Rusia menunjukkan komposisi sebagai berikut: resin 50-55% , wax 30%, minyak esensial 8-10% dan bahan padat 5% ( Hill,

1981). Sedangkan menurut Kaal (1991) komposisi propolis meliputi resin dan balsam  $\pm 50\%$ , wax  $\pm 30\%$ , minyak esensial  $\pm 10\%$ , pollen  $\pm 5\%$ , serta senyawa organik dan mineral sebanyak  $\pm 5\%$ . Pada umumnya, sesuai dengan penelitian Farre dkk (2004) komposisi propolis adalah sebagai berikut:

Tabel 2.1 Komposisi Propolis

Resin	45-50%	flavonoid, phenolic acid dan ester
Wax/lilin	7,55-35%	umumnya wax/lilin lebah terdapat pula bagian tanaman
Minyak esensial	5-10%	Volatile
Asam lemak	5%	umumnya dari wax/lilin dan sisanya tergantung dari asal tanaman
Pollen	5%	protein pollen dan asam amino bebas, arginine dan proline predominate
Bahan organik dan mineral lain	5%	

Efek antimikroba dari propolis berasal dari kandungan flavonoidnya yang tinggi (Wade, 1982; Grange and Davey, 1990; Krol dkk, 1990), hal ini senada dengan pendapat Moncton (2001) yang menyatakan komponen aktif dari propolis yang menentukan besarnya aktivitas antibakteri adalah flavonoid (pinocembrin dan galangin) disamping senyawa fenol (caffeic acid dan ferulic acid). Ekstrak etanol dari propolis mempunyai efek bakterisid disebabkan oleh adanya bahan-bahan aktif seperti yang disebut diatas. Propolis efektif terhadap bakteri gram positif dan beberapa bakteri gram negatif (Mirzoeva, 1996).

Flavonoid itu sendiri merupakan salah satu senyawa fenol alami yang tersebar luas dalam tumbuhan, dan disintesis dalam jumlah sedikit (0,5-1,5%) (Havsteen, 1983). Flavonoid sebenarnya adalah pigmen alami yang dimiliki oleh tumbuh-tumbuhan dan memiliki peranan sebagai komponen aktif dari propolis itu

sendiri. Flavonoid sebagai antibakterial dapat menekan bakteri yang mengkontaminasi luka sehingga infeksi dapat dihindarkan. Propolis membunuh bakteri dengan beberapa cara, yaitu mencegah pembelahan bakteri, sehingga bakteri tidak dapat berkembang biak, merusak dinding sel dan membran sitoplasma bakteri (Dharmayanti dkk, 2000). Peleazar (1988) menyatakan bahwa sebagai antibakteri flavonoid bekerja dengan menghambat perkembangan mikroorganisme karena mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen. Mekanisme kerjanya dengan mendenaturasikan molekul-molekul protein dan asam nukleat yang menyebabkan koagulasi dan pembekuan protein yang akhirnya akan terjadi gangguan metabolisme dan fungsi fisiologis bakteri. Jika metabolisme bakteri terganggu maka kebutuhan energi tidak tercukupi sehingga mengakibatkan rusaknya sel bakteri secara permanen yang pada akhirnya menyebabkan kematian bakteri.. Selain itu, flavonoid juga mampu memicu respon imun, mengurangi pelepasan radikal bebas, dan menghambat pertumbuhan bakteri dan juga jamur (Burdock, 1998).

## 2.2 *Streptokokus*

Bakteri yang diklasifikasi dalam marga *Streptokokus* terbagi menurut ciri-ciri morfologi dan biokimia tertentu. Sifat organisme ini yang sangat khas ialah penampilannya. Organisme ini lebih kurang berbentuk bulat yang tumbuh sebagai rantai. Organisme ini membelah hanya pada satu arah, tetapi belahan itu bukannya menjadi masing-masing kokus melainkan masih mempunyai kecenderungan untuk tetap bersama dan membentuk rantai kokus (Volk, 1990). Menurut Jawetz dkk (1992) *Streptokokus* adalah mikroorganisme bulat, tersusun secara khas dalam rantai dan tersebar luas dalam alam. Beberapa diantaranya adalah anggota flora normal manusia sedangkan jenis lainnya dihubungkan dengan dengan penyakit-penyakit penting pada manusia yang bertalian sebagian dengan infeksi dengan *streptokokus*, sebagian karena sensitisasi terhadapnya.

*Streptokokus* juga menghasilkan berbagai zat ekstraseluler dan enzim-enzim. Kemampuannya untuk menghemolisis sel-sel darah merah sampai berbagai tingkat adalah salah satu dasar penting untuk klasifikasi. Ciri-ciri organismenya menurut Jawetz dkk (1992) kokus yang sendirian berbentuk bulat atau telur dan tersusun dalam rantai. Kokus membagi dalam bidang tegak lurus sumbu panjang rantai. Anggota-anggota rantai sering memberikan gambaran diplokokus, dan bentuk menyerupai batang kadang-kadang terlihat. Panjang rantai sangat bervariasi dan sebagian besar ditentukan oleh faktor-faktor lingkungan.

### 2.3 Klasifikasi *Streptokokus*

Selama bertahun-tahun klasifikasi *streptokokus* dikelompokkan menjadi beberapa kategori utama berdasarkan suatu seri berikut ini: (1) morfologi koloni dan reaksi hemolitik pada agar darah; (2) spesifisitas serologik dari unsur dinding sel golongan spesifik (klasifikasi Lancefield) dan dinding sel lain atau antigen simpai; (3) reaksi biokimia dan resistensi terhadap faktor-faktor fisik dan kimia; dan (4) sifat ekologiannya.

Klasifikasi *Streptokokus* terutama dari segi kepentingan medis *Streptokokus* dan *enterokokus* berikut ini terutama memiliki relevansi medik. (Penanaman spesies yang kurang umum termasuk untuk menjelaskan klasifikasi sebelumnya dan yang terbaru).

#### 1. *Streptokokus pyogenes*

Kebanyakan *streptokokus* yang mengandung antigen golongan A adalah *S pyogenes*. Bakteri ini bersifat  $\beta$  hemolitik, dan merupakan bakteri patogen utama manusia yang berkaitan dengan invasi lokal atau sistemik dan gangguan imunologik setelah infeksi *streptokokus*.

#### 2. *Streptokokus agalactiae*

Bakteri ini adalah *streptokokus* golongan B, merupakan anggota flora normal saluran genital wanita dan penyebab penting dari sepsis neonatus dan meningitis.

#### 3. *Golongan C dan G*

*Streptokokus* ini kadang-kadang muncul pada nasofaring dan mungkin menyebabkan sinusitis, bakteremia, atau endokarditis.

4. *Enterococcus faecalis* (*E. faecium*, *E. durans*)

*Enterokokus* yang bereaksi dengan antiserum golongan D, *enterokokus* adalah bagian dari flora usus normal.

5. *Streptokokus bovis*

Bakteri ini termasuk streptokokus golongan D yang nonenterokokus. Bakteri ini merupakan bagian dari flora usus, dapat menyebabkan endokarditis, dan kadang-kadang mengakibatkan bakterimia pada penderita karsinoma kolon.

6. *Streptokokus anginosus*

Nama sepsies lain untuk *S. anginosus* adalah *S. milleri*, *S. intermedius*, dan *S. constellatus*. *Streptokokus* ini adalah bagian dari flora normal. Bakteri ini mungkin bersifat  $\beta$ -,  $\alpha$ -, atau nonhemolitik.

7. *Streptokokus golongan N*

Bakteri ini jarang ditemukan pada penyakit yang timbul pada manusia tetapi menimbulkan koagulasi yang normal ("souring") pada susu.

8. *Streptokokus* golongan E,F,G,H dan K-U

*Streptokokus* ini timbul secara primer pada hewan daripada di manusia, dengan beberapa pengecualian.

9. *Streptokokus pneumoniae*

*Pneumokokus* ini bersifat  $\alpha$ -hemolitik. Pertumbuhannya dihambat oleh optokin (etilhidrokuprein hidroklorida), dan koloninya larut dalam empedu.

10. *Streptokokus viridans*

Mencakup *S. mitis*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. sanguis* (golongan H) dan lain-lain. Ciri khas bakteri ini adalah sifat  $\alpha$ -hemolitiknya (karena itu dinamakan viridans), tetapi bakteri ini mungkin juga non-hemolitik. Pertumbuhannya tidak dihambat oleh optokin, dan koloninya tidak larut dalam empedu (deoksikolat). *Streptokokus viridans* merupakan anggota flora normal yang paling umum pada

saluran pernapasan bagian atas dan berperan penting untuk menjaga keadaan normal selaput mukosa di situ. Bakteri ini dapat mendapai aliran darah akibat suatu trauma dan menyebabkan endokarditis pada katup jantung yang abnormal. Beberapa *streptokokus viridans* (misalnya *S mutans*) mensintesis polisakarida besar seperti dekstran atau levan dari sukrosa dan menjadi faktor penting pada pembentukan karies gigi.

#### 11. *Streptokokus varian secara nutrisi*

*Streptokokus varian secara nutrisi* (*Streptokokus defectivus* dan *Streptokokus adjacens*) telah dikenal sebagai “*streptokokus defisiensi nutrisi*”, dan dengan nama lainnya.

#### 12. *Streptokokus* (banyak spesies)

*Streptokokus* jenis ini hanya tumbuh pada situasi anaerob atau keadaan mikroaerofilik dan secara bervariasi membentuk hemolisin. (Jawetz dkk, 1996)

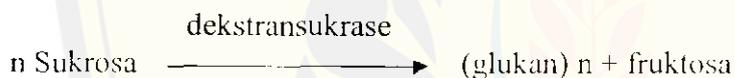
Perlu diingat bahwa sejumlah *streptokokus* (*streptokokus viridans*, enterokokus, dan sebagainya) adalah anggota flora normal pada tubuh manusia. Bakteri-bakteri ini hanya mengakibatkan penyakit bila berada pada bagian tubuh lain yang secara normal tidak didiaminya (misalnya katup jantung). Untuk mencegah keadaan ini, khususnya selama pembedahan saluran pernapasan, saluran cerna, dan saluran kemih yang mengakibatkan bakterimia sementara, obat antimikroba sering diberikan sebagai pencegah pada orang yang diketahui memiliki kelainan katup jantung serta memakai katup atau sendi prostetik (Jawetz dkk, 1996).

### 2.4 *Streptokokus mutans*

*Streptokokus mutans* adalah mikroorganisme flora mulut yang dominan dalam proses terjadinya karies. *S. mutans* adalah bakteri gram positif, anaerobik fakultatif, nonhemolitik, asidogenik memproduksi polisakarida ekstraselular dan intra selular berbentuk bulat dengan diameter sel 0,5-0,7 mm, kadang-kadang bentuknya mengalami pemanjangan menjadi batang pendek, tersusun berpasangan atau

membentuk rantai pendek (Nolte, 1982). Adapun, yang dimaksud dengan anaerobik fakultatif menurut Jawetz (1996) adalah kuman yang dapat tumbuh secara oksidatif dengan menggunakan oksigen sebagai akseptor electron terakhir atau dapat tumbuh secara anaerob dengan menggunakan reaksi peragian untuk memperoleh energi. Bakteri anaerob fakultatif dapat tumbuh lebih baik dalam keadaan anaerob daripada dalam keadaan aerob.

Jawetz dkk (1992) menyatakan pengamatan bahwa kerusakan gigi adalah akibat infeksi bakteri kini telah dipastikan. Beberapa organisme rupanya terlibat, salah satu diantaranya diberi nama *Streptokokus mutans*. Volk (1990) menyatakan bahwa bakteri ini menyeleksi transferase glukosil ekstrasel, yang juga disebut dekstransukrase, yang secara khas membentuk polimer glukosa tidak larut yang besar (misalnya glukon) seperti yang diperlihatkan oleh persamaan reaksi berikut :



Glukan melekat erat pada permukaan gigi dan pada bakteri, yang membawa *streptokokus* berhubungan sangat erat dengan email gigi. Sementara *streptokokus*, yang tertanam pada lapisan glukon, melakukan fermentasi fruktosa yang telah dilekukkan dari sukrosa, terbentuk asam laktat. Sebagai akibat hubungannya yang erat dengan gigi; asam laktat ini menyebabkan dekalsifikasi (penyusutan kapur) dan pembusukan.

## 2.5 Aktivitas Antimikroba In vitro

Aktivitas antimikroba diukur secara invitro untuk menentukan: (1) potensi zat antimikroba dalam larutan, (2) konsentrasinya dalam cairan tubuh dan jaringan, dan (3) kepekaan mikroorganisme terhadap obat pada konsentrasi tertentu (Jawetz dkk, 1996). Pengukuran aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode utama berikut: pengenceran atau difusi. Dengan menggunakan bakteri

percobaan standard dan contoh obat yang telah dikenal sebagai perbandingan. metode ini dapat digunakan untuk menentukan potensi obat yang sedang diperiksa atau kepekaan mikroorganisme.

A. Metode Pengenceran: Tes kepekaan pengenceran agar memakan waktu, dan penggunaannya terbatas pada keadaan khusus.

B. Metode Difusi: Cakram kertas saring, cawan yang berliang renik atau silinder tidak beralas, yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada perbarnihan padat yang telah ditanami dengan biakan tebal organisme yang diperiksa. Setelah pengeraman, garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan obat terhadap organism yang diperiksa. Metode ini dipengaruhi banyak factor fisik dan kimiawi disamping interaksi antara obat dan organisme (misalnya, sifat perbarnihan dan daya difusi, ukuran molekul, dan stabilitas obat). Meskipun demikian, dengan standarisasi keadaan akan memungkinkan pengukuran kuantitatif potensi obat atau kepekaan organisme (Jawetz dkk, 1996).

Menurut Jawetz dkk (1996), Penggunaan cakram tunggal untuk tiap obat antimikroba dengan keadaan tes yang standar memungkinkan penilaian kepekaan atau resistensi mikroorganisme dengan membandingkan ukuran daerah hambatan terhadap suatu patokan terhadap suatu obat yang sama (metode Kirby-Bauer).

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental Laboratoris

### 3.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

### 3.3 Waktu penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan April tahun 2008

### 3.4 Variabel Penelitian

#### 3.4.1 Variabel bebas

- Ekstrak propolis
- Povidon Iodine
- Aquades steril

#### 3.4.2 Variabel Terikat

Hambatan pertumbuhan *Streptokokus mutans*

#### 3.4.3 Variabel Kendali

- Cara pembuatan konsentrasi ekstrak Propolis
- Cara pembuatan suspensi *S. mutans*
- Media pertumbuhan *S. mutans*
- Suhu dan lama inkubasi
- Cara pengukuran zona hambat
- Ekstrak propolis konsentrasi 100%, 50%, 25% dan 12,5%



### 3.5 Definisi Operasional

#### 3.5.1 Konsentrasi ekstrak propolis 100%, 50%, 25% dan 12,5%

Konsentrasi ekstrak etanol propolis adalah persentase kandungan propolis sebanyak 100%, 50%, 25% dan 12.5%.

#### 3.5.2 Hambatan Pertumbuhan *S. mutans*

Hambatan pertumbuhan *S. mutans* adalah wilayah jernih yang tampak di sekitar cakram (zona hambatan).

### 3.6 Alat dan Bahan

#### 3.6.1 Alat

Alat yang digunakan adalah

- Desicator 20 cm with porcelaine plate ( Duran )
- Neraca (Ohaus, Germany)
- Tabung erlenmeyer ( Pyrex, Japan)
- Gelas ukur ( Pyrex, Japan)
- Petridish
- Lampu bunsen
- Pinset
- Jangka sorong (Medesy, Italy).
- Tabung reaksi ( Pyrex, Japan)
- Spatula
- Ose, Cotton bud
- *Disposable syringe* 2,5 ml (Terumo, Japan)
- *Laminar flow* (Suzhou Antai Air Tech Co. LTH type HF 100. China)
- *Autoclave* (Memmert, USA).
- *Spectofotometer* merk Milton Roy.
- Inkubator (Binder, USA)
- *Thermolyne* ( Maxi Mix II, Iowa USA )
- *Micropipet* ( Eppendorf-Netheler, Hamburg- Germany )

### 3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah

- Aquades steril
- Kertas saring
- Ekstrak propolis
- Galur murni *S. Mutans* Laboratorium mikrobiologi FKG UNEJ, Jember Indonesia
- Povidon iodine ( Betadine obat kumur, Indonesia )
- BHI-A ( Brain Heart Infusion Agar )
- BHI-B (Brain Heart Infusion Broth)
- Larutan standar Mc Farland no 0,5

### 3.7 Sampel Penelitian

#### 3.7.1 Jumlah Sampel Penelitian

Jumlah sampel dalam penelitian ini adalah 8 buah untuk setiap kelompok perlakuan, diperoleh dari rumus menurut Steel dan Torrie (1995) sebagai berikut:

Perhitungan penentuan jumlah sampel:

$$n = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 sD}{d^2}$$

n = Banyak sampel

Z<sub>α</sub> = batas atas nilai konversi (1,96)

Z<sub>β</sub> = batas bawah nilai konversi (0,85)

sD<sup>2</sup> = diasumsikan ) sD<sup>2</sup> = d<sup>2</sup>

α = tingkat signifikan (0,05)

β = 1-p, β = 20% = 0,2

p = tingkat kepercayaan penelitian

### 3.7.2 Penggolongan Sampel Penelitian

Sampel penelitian dibagi dalam dua kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan yaitu:

1. A : Kontrol negatif ( aquades steril )
2. B : Kontrol positif ( Povidon iodine 1% )
3. C1 : Ekstrak Propolis konsentrasi 100%
4. C2 : Ekstrak Propolis konsentrasi 50%
5. C3 : Ekstrak Propolis konsentrasi 25%
6. C4 : Ekstrak Propolis konsentrasi 12,5%

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Mensterilkan Alat

Semua alat dicuci bersih dan disterilkan di dalam oven dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit

#### 3.8.2 Mempersiapkan Cakram/ Paper Disc

Kertas saring dipotong dengan perforator sehingga didapatkan cakram atau paper disc dengan diameter 5mm yang kemudian disterilkan dalam oven selama 15 menit dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$ .

#### 3.8.3 Mempersiapkan Lidi dan Kapas

Lidi yang telah dililit dengan kapas berlilin dibungkus dengan kertas coklat, kemudian disterilkan dalam oven selama 15 menit dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$ .

#### 3.8.4 Mempersiapkan Media

4,75 gram BHI-A ditambahkan 100 cc aquadest steril, dipanaskan dalam air mendidih sampai larut lalu dituang pada petridish, setelah itu disterilkan dengan *autoclave* sampai suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 20 menit. Kemudian dikeluarkan dari *autoclave* dan ditunggu sampai dingin (Didin, 2006:4)

Petridish yang telah dingin dibalik dan dibagi menjadi 6 bagian sama besar dengan menggunakan spidol, kemudian tiap bagian diberi tanda A, B, 100, 50, 25, dan 12,5.

A. untuk kontrol negatif (aquadest steril). B untuk kontrol positif (Povidon Iodin 1%), 100 untuk ekstrak propolis konsentrasi 100%, 50 untuk ekstrak propolis konsentrasi 50%, 25 untuk ekstrak propolis konsentrasi 25%, dan 12,5 untuk ekstrak propolis konsentrasi 12,5%

### 3.8.5 Mempersiapkan Suspensi *S. Mutans*.

*Streptokokus mutans* diperoleh dari laboratorium mikrobiologi FKG UNEJ dan dibiakkan di BHI-B ditambah 1 ose bakteri *S. mutans* dalam tabung reaksi, lalu dimasukkan kedalam desicator dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam suspensi dikocok thermolyne kemudian diukur tingkat kekeruhannya pada *spectrofotometer* sesuai larutan standar Mc Farland untuk bakteri yaitu 0.5 ( panjang gelombang 625 nm). Larutan standar ini digunakan untuk standarisasi angka-angka bakteri yang diperlukan untuk memeriksa prosedur atau untuk uji kepekaan (Lennette dkk, 1985; NCCLS, 1990).

Pada perlakuan ini, spektrofotometer dikondisikan sebagai berikut:

1. Spektrofotometer dihidupkan kira-kira 15 menit dan panjang gelombang diatur menjadi 625 nm
2. Tombol absorbansi diputar sampai jarum petunjuk mencapai nilai nol, kemudian tabung reaksi (khusus untuk spektrofotometer) dimasukkan, transmitan dikondisikan sampai jarum mencapai nilai 100
3. Tabung reaksi berisi aquadest (sebagai blanko) diukur pada spektrofotometer siap untuk menghitung absorbansi suspensi *Streptokokus mutans*

### 3.8.6 Mempersiapkan ekstrak propolis

Ekstrak propolis dalam penelitian ini diperoleh dengan cara propolis lebah ditimbang dengan timbangan Ohaus sebanyak 5 gr dan ditambahkan Etil alkohol 96% sebanyak 50 ml, kemudian digerus dengan mortal dan spatula untuk menghaluskan. Larutan dibiarkan dalam gelas ukur dalam keadaan tertutup selama empat hari pada temperatur 37°C dengan sesekali dikocok. Larutan kemudian disaring dengan kain

flanel putih lalu diperas. Ekstrak yang didapat ditambahkan aquades steril 50 ml dan *petroleum eter 50 ml* untuk memisahkan lilin, lemak dan klorofil dari flavonoid. Setelah itu diuapkan dalam *waterbath* dengan suhu 60°C untuk menguapkan etil alkohol 96% , sehingga didapatkan ekstrak propolis lebah yang larut dalam aquades 50 ml ( Harborne, 1987).

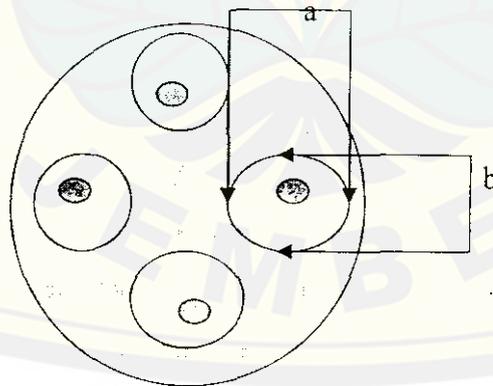
Ekstrak propolis lebah yang larut dalam 50 ml aquades tersebut merupakan ekstrak propolis lebah dengan konsentrasi 100%. Untuk mendapatkan konsentrasi 50% dengan cara diambil 1ml dari konsentrasi 100% tadi kemudian diencerkan dengan aquades steril 1ml. Setelah itu, dikocok dan diambil 1ml. Demikian terus berulang untuk mendapatkan konsentrasi 25% dan 12,5%.

### 3.8.7 Uji Daya Hambat Ekstrak Propolis terhadap pertumbuhan *S. Mutans*

1. Melakukan inokulasi bakteri *S. mutans* dengan cara mencelupkan tangkai kapas yang telah disterilkan (cotton swab) dalam biakan organisme, kemudian putar bagian kapas ke sisi tabung agar cairan tidak menetes dari bagian kapas tersebut. Menyebarkan mikroorganisme pada seluruh permukaan lempeng agar. Untuk mendapatkan pertumbuhan yang merata, menggores secara mendatar, kemudian lempengan diputar 90° dan dibuat goresan kedua, lempengan diputar kembali sebanyak 45° dan dibuat goresan ketiga. Kemudian dibiarkan selama 5 menit agar meresap. (Lay, 1994:71)
2. Menyiapkan empat tabung reaksi yang berisi ekstrak propolis lebah dengan konsentrasi berbeda, yaitu konsentrasi 100%; 50%; 25% dan 12,5% dan dua tabung reaksi yang berisi povidon iodine serta aquades steril. Kemudian masing-masing diambil dengan mikropipet eppendhorf Sebanyak 50 µL lalu diteteskan pada kertas saring berdiameter 5 mm lalu diuapkan dengan dryer sehingga pelarut akan menguap dan yang tersisa pada kertas cakram adalah residu bahan. Letakkan cakram pada agar yang telah diberi tanda pada petridish sesuai dengan konsentrasinya. Petridish kemudian diletakkan dalam

*desicator* dan dimasukkan dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C (Hidayati, 2002 : 45).

3. Paper disc yang telah terisi oleh ekstrak propolis lebah, povidon iodine dan aquades steril. diletakkan diatas media dengan menggunakan pinset steril.
4. Paper disc dibiarkan dan sedikit ditekan pada permukaan media agar diperoleh kontak yang baik. kemudian cawan petri dimasukkan dalam *desicator* yang didalamnya terdapat lilin yang menyala. Kemudian *desicator* ditutup dan ditunggu hingga nyala lilin mati untuk diperoleh menciptakan kondisi anaerob. *Desicator* dimasukan ke dalam inkubator lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
5. Dilakukan pengukuran luas daerah jernih (daerah zona hambat) disekitar paper disc dengan jangka sorong. Pengukuran daerah zona hambat yaitu dengan membalikkan petridish sehingga terlihat daerah hambatan yang tampak transparan, kemudian dengan menggunakan jangka sorong daerah ini diukur diameternya dan dicatat. Cara pengukuran seperti pada gambar dibawah ini :



Gambar 1. Cara pengukuran zona hambat

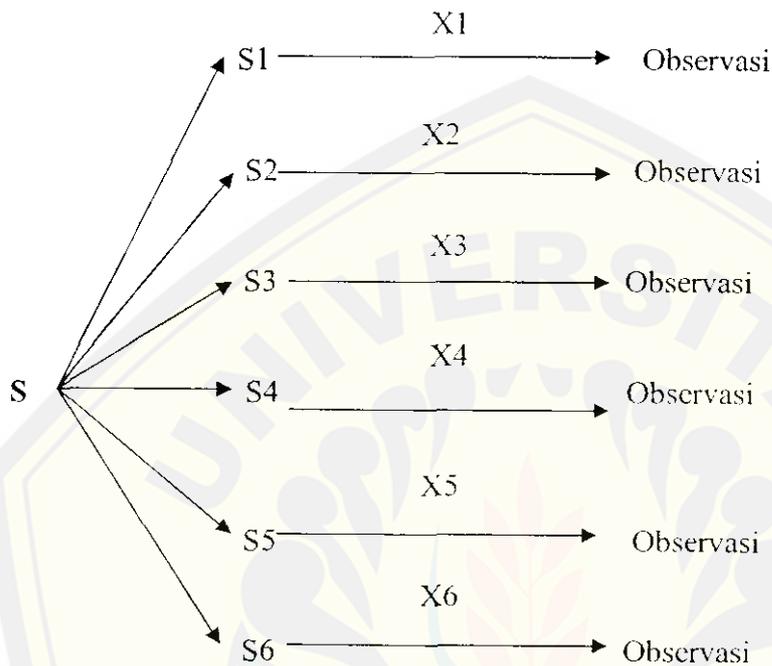
Apabila ada diameter yang besar dan kecil maka keduanya dijumlah kemudian dibagi dua dan dicatat. Misalnya didapatkan zona hambatan berbentuk lonjong, maka pengukuran dilakukan pada diameter yang panjang (misal a mm) dan diameter yang

pendek (misal  $b$  mm) kemudian keduanya dijumlah dan dibagi dua. Jadi diameter zona hambat ( $x$ ) =  $(a + b) / 2$  (Prihantiningih, 2005 : 26).

### 3.9 Analisis Data

Dalam Penelitian ini dilakukan uji normalitas dan homogenitas menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan *Levene-statistic*, jika hasil datanya terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji statistik parametrik dengan derajat kemaknaan  $p < 0,05$  ( $\alpha = 95\%$ ). Syarat-syarat uji parametrik menurut Djarwanto (1996) yaitu observasinya independen/ bebas satu sama lain, berdistribusi normal dan homogen, memiliki rasio variasi yang sama, dan data yang diolah berskala interval atau rasio. Karena yang ingin diketahui dalam penelitian ini adalah ada tidaknya perbedaan antara beberapa variabel bebas yaitu povidon iodine, aquades steril dan ekstrak propolis dengan satu variabel terikat yaitu hambatan pertumbuhan *Streptokokus mutans* maka menurut Djarwanto (1996) uji parametrik yang dipilih adalah uji Anova satu arah. Jika hasilnya beda bermakna, maka dilanjutkan dengan uji LSD (*least significant difference*) untuk mengetahui perbedaan antar tiap-tiap kelompok perlakuan.

## 3.10 Skema Kerja Penelitian



- S : *S. mutans* yang telah diinokulasi pada BHI agar
- S1 : Kontrol negatif
- S2 : Kontrol positif
- S3 : Propolis konsentrasi 100%
- S4 : Propolis konsentrasi 50%
- S5 : Propolis konsentrasi 25%
- S6 : Propolis konsentrasi 12,5%
- X1 : Diberi perlakuan dengan ditambahkan aquades steril
- X2 : Diberi perlakuan dengan ditambahkan diberi povidon iodine
- X3 : Diberi perlakuan dengan ditambahkan ekstrak propolis konsentrasi 100%
- X4 : Diberi perlakuan dengan ditambahkan ekstrak propolis konsentrasi 50%
- X5 : Diberi perlakuan dengan ditambahkan ekstrak propolis konsentrasi 25%
- X6 : Diberi perlakuan dengan ditambahkan ekstrak propolis konsentrasi 12,5%

### 3.11 Hipotesis Penelitian

Propolis dalam konsentrasi tertentu yang berasal dari Indonesia khususnya daerah Jawa Timur memiliki daya antibakterial yang mampu untuk menghambat pertumbuhan *Streptokokus mutans*.



## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

## 4.1 Hasil Penelitian

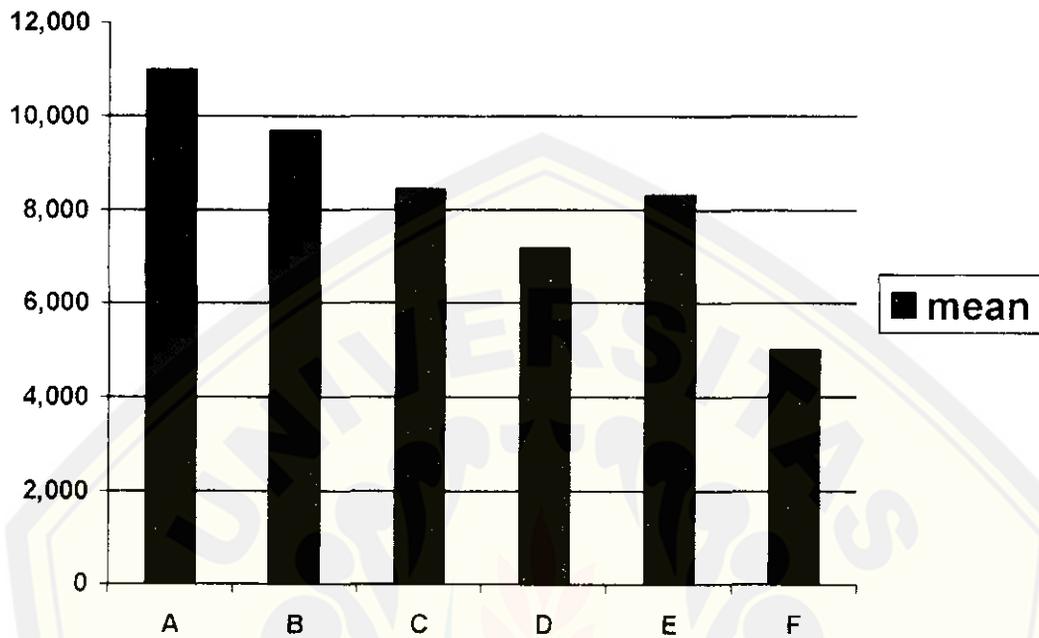
Hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh data tentang pengaruh ekstrak propolis dengan berbagai konsentrasi, povidon iodine 1% sebagai kontrol positif, aquadest sebagai kontrol negatif terhadap pertumbuhan *Streptokokus mutans* selama 24 jam. Data hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata zona hambat ekstrak propolis, povidon iodin dan aquades steril.

No	Kelompok Perlakuan	n	Rata – rata	Standar deviasi
1	ekstrak propolis 100%	8	11,0000	0,4629
2	ekstrak propolis 50%	8	9,6785	0,5303
3	ekstrak propolis 25%	8	8,4375	0,3204
4	ekstrak propolis 12,5%	8	7,1875	0,3720
5	povidon iodine	8	8,3125	0,2588
6	aquadest steril	8	5,0000	0,0000

Tabel 1 menunjukkan rata-rata perbedaan zona hambat untuk masing - masing kelompok perlakuan. Untuk ekstrak propolis konsentrasi 100% rata-rata zona hambatnya sebesar 11,0000 mm, konsentrasi ekstrak propolis 50% menunjukkan penurunan rata-rata zona hambat sebesar 9,6785 mm, sedangkan untuk konsentrasi ekstrak propolis 25% rata-rata zona hambatnya sebesar 8,4375 mm. pada ekstrak propolis konsentrasi 12,5% memiliki rata-rata zona hambat sebesar 7,1875 mm. Pada kelompok kontrol, rata-rata zona hambat povidon iodine 1% sebagai kontrol positif sebesar 8,3125 mm, sedangkan aquades sebagai kontrol negatif rata-rata zona hambatnya sebesar 5,0000 mm.





- A : kelompok percobaan ekstrak propolis 100%  
B : kelompok percobaan ekstrak propolis 50%  
C : kelompok percobaan ekstrak propolis 25%  
D : kelompok percobaan ekstrak propolis 12.5%  
E : kelompok percobaan Povidon iodine  
F : kelompok percobaan aquadest steril

Gambar 2. Histogram Rerata Zona Hambat antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan

#### 4.2 Analisa Data

Analisa data hasil penelitian didahului dengan uji normalitas dan homogenitas data untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal dan homogen dengan uji normalitas dan homogenitas *Kolmogorov-Smirnov*.

Tabel 2. Hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* daya hambat ekstrak propolis, povidon iodine dan aquades steril terhadap *Streptokokus mutans*

	Konsentrasi				Kontrol	
	100%	50%	25%	12,5%	povidon iodine	Aquades
Sig	0,769	0,825	0,358	0,469	0,174	0,000

Pada tabel 2 dapat diketahui bahwa nilai probabilitas zona hambat untuk kelompok perlakuan ekstrak propolis konsentrasi 100%, 50 %, 25 %, 12,5 % dan povidon iodine yaitu 0,769 ; 0,825 ; 0,358 ; 0,469; 0,174. Karena ( $p > 0,05$ ) berarti data penelitian yang diperoleh pada setiap variabel terdistribusi tersebut normal, sedangkan pada kontrol negatif (aquades) tidak dapat diuji normalitas datanya karena pada variabel tersebut tidak didapatkan variasi distribusi data oleh karena nilai rata-rata zona hambatnya sama yaitu 5 mm.

Tabel 3. Hasil uji homogenitas *Levene-Statistic* daya hambat ekstrak propolis, povidon iodine dan aquades steril terhadap *Streptokokus mutans*

	Levene statistik	df 1	df 2	sig
Hasil ukur	1,763	4	35	0,159

Hasil uji homogenitas varians kelompok perlakuan pada pengamatan 24 jam terlihat bahwa nilai probabilitasnya 0,159 ( $p > 0,05$ ). Berarti data penelitian yang diperoleh pada setiap variabel adalah homogen. Setelah diketahui data terdistribusi normal serta homogen, maka dilakukan uji parametrik menggunakan uji anova satu arah untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna ataupun perbedaan

yang tidak bermakna dari hasil penelitian pada masing-masing kelompok perlakuan. Hal ini dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji anova satu arah rata-rata diameter zona hambat ekstrak propolis terhadap pertumbuhan *Streptokokus mutans*

	Jumlah kuadrat	Df	Rerata kuadrat	F	sig
Antar kelompok	170,854	5	34,171	225,142	0,000
Dalam kelompok	5,625	42	0,134		
Jumlah	176,479	47			

df : derajat kebebasan  
F : analisa parametrik varian  
P < 0,05 : berbeda bermakna

Hasil signifikansi uji anova satu arah menunjukkan 0,000 dengan  $p < 0,05$ , maka dapat dinyatakan bahwa antar 6 kelompok percobaan rata-rata memiliki diameter zona hambat yang berbeda bermakna. Setelah diketahui seluruh kelompok rata-rata berbeda bermakna, maka untuk mengetahui perbedaan pada tiap-tiap kelompok dilakukan uji LSD (*least significant difference*) dengan  $p < 0,05$ . Maka hasilnya dapat dilihat pada tabel 6 dibawah ini.

Tabel 6. Hasil Uji LSD (*least significant difference*) Rata-Rata diameter Zona Hambat Ekstrak Propolis Terhadap Pertumbuhan *Streptokokus mutans*

%	100	50	25	12,5	povidon iodine	Aquades
100	-	*	*	*	*	*
50	*	-	*	*	*	*
25	*	*	-	*	**	*
12,5	*	*	*	-	*	*
povidon iodine	*	*	**	*	-	*
aquades	*	*	*	*	*	-

\* = beda bermakna pada tingkat kepercayaan 95 % (  $\alpha = 0,05$  )

\*\* = beda tidak bermakna pada tingkat kepercayaan 95 % (  $\alpha = 0,05$  )

Tabel 6 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna zona hambat antara ekstrak propolis konsentrasi 100%, 50 %, 12,5 %, dan povidon iodine, serta aquades steril. Kecuali pada ekstrak propolis konsentrasi 25% dengan povidon iodine 1%. Analisa data dengan uji LSD menunjukkan rata-rata perbedaan probabilitas antar perlakuan sebagai berikut: antara ekstrak propolis 100 % dengan ekstrak propolis 50% probabilitasnya sebesar 0,00 ( $p < 0,05$ ) atau terdapat perbedaan bermakna, antara ekstrak propolis 100 % dengan ekstrak propolis 25 % probabilitasnya sebesar 0,000 ( $p < 0,05$ ) atau terdapat perbedaan bermakna, antara ekstrak propolis 100% dengan kontrol positif dan kontrol negatif nilai probabilitasnya 0,00 dengan  $p < 0,05$  sehingga terdapat perbedaan bermakna. Antara ekstrak propolis 50% dengan ekstrak propolis 25%, 12,5%, kontrol positif dan kontrol negatif nilai probabilitas 0,00 dengan  $p < 0,05$  berarti terdapat perbedaan bermakna, demikian juga antara ekstrak propolis 25% dengan ekstrak propolis 12,5% dan kontrol negatif nilai  $p < 0,05$  atau terdapat perbedaan bermakna, sedangkan dengan kontrol positif dalam hal ini povidon iodine,

nilai probabilitasnya adalah 0,498 atau lebih dari nilai p sehingga hasilnya tidak berbeda bermakna. Pada ekstrak propolis 12,5% dengan kontrol positif dan kontrol negatif, nilai signifikansinya juga 0,00 atau  $<0,05$  sehingga dibaca terdapat perbedaan bermakna.

#### 4.3 Pembahasan

Telah diketahui bahwa beberapa tahun belakangan ini, untuk meningkatkan sistem imun terhadap patogenitas bakteri digunakan prebiotik, probiotik dan produk-produk alami. Sedangkan negara Indonesia adalah negara yang kaya akan flora fauna dan hasil alamnya sangat beragam. Salah satunya adalah lebah madu yang menghasilkan propolis. Beberapa alternatif pengobatan kemudian dipilih, biasanya yang lebih murah dan lebih mudah dijangkau masyarakat. Misalnya pengobatan tradisional dengan produk-produk hewan, yaitu produk lebah madu, seperti madu, royal jelly, dan propolis lebah yang diindikasikan memiliki kandungan flavonoid yang cukup tinggi, sehingga tidak tertutup kemungkinan bahan-bahan alam khususnya propolis dapat dimanfaatkan sebagai bahan antibakterial pada rongga mulut yang berfungsi sebagai antiseptik dibidang kedokteran gigi.

Propolis merupakan suatu kumpulan getah, resin, dan balsam yang mempunyai konsistensi liat atau kental yang dikumpulkan oleh lebah pekerja dari sari bunga, tunas-tunas, kulit tumbuhan, cabang ataupun daun pohon. Beberapa penelitian mengenai propolis telah dilakukan di luar negeri, yang telah membuktikan kandungan antibakteri flavonoid pada propolis. Namun, karena kurangnya penelitian mengenai efek antibakterial pada propolis yang terdapat di Indonesia terutama di daerah Jawa Timur sehingga propolis kurang dimanfaatkan dalam masyarakat luas khususnya di daerah Jawa Timur, maka pada penelitian ini bertujuan ingin mengetahui apakah ekstrak propolis dengan berbagai konsentrasi, mempunyai daya antibakteri terhadap *Streptokokus mutans* dengan menggunakan metode difusi cakram secara in vitro.

Pada penelitian secara in vitro ini, propolis diolah sehingga menjadi ekstrak dengan bahan utama etanol karena pada beberapa penelitian terdahulu telah

menyatakan bahwa komponen flavonoid yang terdapat dalam larutan ekstrak etanol propolis mempunyai daya anti bakteri utamanya di rongga mulut (Miyazawa dkk, 1991:347). Penelitian kali ini digunakan ekstrak etanol propolis dengan konsentrasi 100%, 50%, 25 %, dan 12,5%, serta aquades steril sebagai kontrol negatif, dan povidon iodine 1% yang terdapat dalam betadine® obat kumur sebagai kontrol positif.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada bulan April 2008, hasil pengukuran zona hambatan (dapat dilihat pada tabel 1) menunjukkan bahwa ekstrak propolis 100% mempunyai zona hambatan terendah 10,5 mm dan tertinggi 11,5 mm. ekstrak propolis 50% zona hambatan terendahnya 9,0 mm dan tertinggi 10,5 mm, dan ekstrak propolis 25% zona hambatan terendah sebesar 8,0 mm dan tertinggi 9,5 mm serta pada ekstrak propolis 12,5% yang memiliki zona hambatan terendah 6,5 mm dan zona hambatan tertinggi sebesar 7,5 mm.

Zona hambatan yang terdapat pada tiap-tiap kelompok perlakuan ekstrak etanol propolis berbagai konsentrasi ini dikarenakan oleh bahan-bahan yang terkandung dari propolis yang kemudian menentukan besarnya aktivitas antibakterial seperti flavonoid (pinocembrin dan galangin) disamping senyawa fenol (caffeic acid dan ferulic acid). Ekstrak etanol dari propolis mempunyai efek bakterisid disebabkan oleh adanya bahan-bahan seperti yang disebut diatas (Moncton, 2001: ). Flavonoid itu sendiri sebenarnya adalah pigmen alami yang dimiliki oleh tumbuh-tumbuhan dan merupakan senyawa fenol alami yang memiliki peranan sebagai komponen aktif dari propolis itu sendiri.

Komponen flavonoid dalam propolis melepaskan energi yang mampu mengubah keadaan membran sitoplasma adan mampu menghambat motilitas bakteri (Koo dkk dalam Nunuk Purwanti, 2003:42). Menurut Dharmayanti (2002) propolis membunuh bakteri dengan beberapa cara, yaitu mencegah pembelahan bakteri, sehingga bakteri tidak dapat berkembang biak, merusak dinding sel dan membran sitoplasma bakteri. Sedangkan Pelezar (1988) menyatakan bahwa sebagai antibakteri flavonoid bekerja dengan menghambat perkembangan mikroorganisme karena

mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen. Mekanisme kerjanya dengan mendenaturasikan molekul-molekul protein dan asam nukleat yang menyebabkan koagulasi dan pembekuan protein yang akhirnya akan terjadi gangguan metabolisme dan fungsi fisiologis bakteri. Apabila metabolisme bakteri terganggu maka kebutuhan energi tidak tercukupi sehingga mengakibatkan rusaknya sel bakteri secara permanen yang pada akhirnya menyebabkan kematian bakteri. (Burdock, 1998).

Berdasarkan tabel hasil penelitian (tabel 1) dimana hasilnya menunjukkan bahwa setelah inkubasi selama 24 jam, kecuali pada kelompok kontrol negatif, semua kelompok ekstrak propolis dan kontrol positif mampu menghambat pertumbuhan *Streptokokus mutans*. Daerah hambatan untuk povidon iodin 1% sebagai kontrol positif menunjukkan zona hambat yang setara dengan ekstrak propolis 25% dengan zona hambatan terbesar 8,5 mm dan terkecil 8 mm dimana pada uji LSD kedua kelompok tersebut ( ekstrak propolis 25% dan povidon iodin ) memiliki nilai signifikansi 0,498 dengan  $p < 0,05$  sehingga hasilnya dibaca tidak ada perbedaan bermakna pada zona hambat kelompok percobaan ekstrak propolis 25% dan kelompok percobaan povidon iodin.

Data pada tabel 1 juga menunjukkan bahwa diameter zona hambatan terbesar pada kelompok perlakuan adalah pada kelompok ekstrak propolis 100%, dimana hal ini didukung oleh pendapat Pelezar dan Chan dalam Ristya Widi dkk (1988:456), bahwa konsentrasi antimikroba akan mempengaruhi kerja antimikroba. Semakin tinggi konsentrasi antimikroba maka kerja antimikroba akan semakin cepat sehingga semakin banyak mikroorganisme yang terbunuh. Efektivitas kerja suatu antimikroba juga semakin meningkat dengan semakin tingginya konsentrasi zat antimikroba.

Suatu antibakteri dapat bersifat bakteriostatik maupun bakteriosid karena mereka memiliki kemampuan dalam mengganggu metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis dinding sel mikroba, mengganggu permeabilitas membran sel mikroba, dan menghambat atau merusak asam nukleat (Jawetz, 1991:149-151).

Sehingga dalam hal ini, propolis dapat dinyatakan sebagai salah satu bahan yang bersifat antibakteri. Selain itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut guna mengetahui konsentrasi yang paling efektif dari ekstrak propolis dalam menghambat pertumbuhan *S. Mutans* secara in vivo sehingga pengolahan propolis dapat dikembangkan manfaatnya sebagai bahan antibakterial di bidang kesehatan khususnya bidang kedokteran gigi.



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

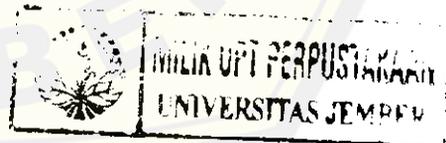
Dari hasil penelitian berjudul uji daya antibakterial ekstrak propolis terhadap bakteri *Streptokokus mutans* secara invitro ini dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

- a. Ekstrak propolis konsentrasi 100%, 50 %, 25 %, dan 12,5 % memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Streptokokus mutans*.
- b. Daya hambatan terbesar dari tiap kelompok perlakuan adalah pada kelompok ekstrak propolis konsentrasi 100%.

### 5.2 Saran

Dari hasil penelitian ini disarankan perlunya penelitian lebih lanjut mengenai hal-hal berikut.

- a. Efek antibakteri ekstrak propolis terhadap bakteri yang lain.
- b. Konsentrasi yang paling efektif dari ekstrak propolis dalam menghambat pertumbuhan *S. Mutans* secara in vivo.



## DAFTAR PUSTAKA

- Burdock GA.1998. *Review of the Biological Properties and toxicity of Bee Propolis*. Food Them Toxicol 36, 347-363
- Croft KD. 1998.*The Chemistry and Biological Effects of Flavonoids and Phenolic Acids*. Ann N Y Acad Sci,854:435-442
- Dharmayanti, Sulistiyowati E, dkk. 2000.*Efektivitas pemberian propolis lebah dan royal jelly pada abses yang disebabkan staphylococcus aureus*. Pusat Penelitian Bogor – LIPI.
- Djarwanto SE. 1996. *Mengenal Beberapa Uji Statistik Dalam Penelitian*. Yogyakarta:Liberty
- Focht J, Hansen SH, Nielsen JV and Van De Berg Seger A.1993. *Bactericidal Effect of Propolis In Vitro Against Agents Causing Upper Respiratory Tract Infections*. *Arzheimittelforschung* 43 (8).921-923
- Ghizalberti EL. 1979. *Propolis: a Review* . bee World ; 60:59-84
- Grange JM and Davey RW.1990.*Antibacterial Properties of Propolis (Bee Glue)*. Journal R.Soc.Med.83 (3), 159-160
- Harborne J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwany dari *Phytochemicals methods* (1980). Edisi 2. Bandung. ITB Bandung
- Havsteen B.1983. *Flavonoids a Class of Natural Products of Hig Pharmacological Potency*. *Biochemical Pharmacology* ,32:1141-1148
- Hill R. 1981.*propolis: The NaturAntibiotic*. Wellingborough Thorsons Publishers
- Ikeno, K, Ikeno, T , Miyazawa,C. 1991. *Effect of Propolis on Dental Caries in Rats*. *Caries Res*, 1991; 25 (5):347
- Kaal, J. 1991. *Natural Medicine From Honey Bees (Apitherapy)*. Amsterdam. Kaal's Printing House

- Koo H, Rosalen P, Cury J, Park Y, Ikegaki M, Sattler A. 1999. *Effect of Apis Mellifera Propolis from Brazilian Regions on Caries Development in Desalivated Rats*. *caries res* 33(5):393-400
- Krell R. 1996. *Value-added Product from Beekeeping*. FAO Agricultural Services Bulletin N. Rome
- Krol W, Czuba Z, Schaller S, Gabry J, Grabiec and Shani J. 1990. *Anti-Oxidant Property of Ethanolic Ekstract of Propolis (EEP) as Evaluated by Inhibiting the Chemiluminesence Oxidation of Luminol*. *Biochem.int.* 21(4), 593-597.
- Lay, Bibiana W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT Raja Grafindo.
- Lennette, E.H., Ballows, A., Hausler, W.J.Jr., and Shadomy, H.J. 1985. *Manual of Clinical Microbiology*. 4th ed. Washington D.C.: American society for Microbiology.
- Lavelle CLB. 1988. *Applied Oral Physiology. 2nd ed*, london: Wright
- Lin SC, Lin YH, Chen CF, Chung CY, Hsu SH. 1997. *the Hepatoprotective and Theurapetic Effects of Propolis Ethanol Ekstract on Chronic Alcohol-Induced Injuries*. *Am.J.Chin.Med* 25(3-4):325-332
- Marucci MC, Ferres F, Custidio AR, Ferreira MMC, Bankova VS, Garcia-Viguera C. 2000. *Evaluation of Phenolic Compounds in Brazilian Propolis from Different Geographic Regions*. *Z Naturforsch C A J. Biosci* 55(1-2):76-81
- Marsh, Philip dan Michael V. Martin. 1999. *Oral Microbiology Fourth Edition*. London: Wright
- Mirzoeva OK, Calder PC. 1996. *the Effect of Propolis and it's Components on Eicosonoid Prodictions During the Inflammatory Response, prostaglandin, Leukot, Essent, Fatty, Acid*
- Moncton NB. 2001. *bij Dingens Propolis Products*. <http://www.planetbee.content.org>. diakses november 2007.
- NCCLS. 1990. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests*. 4th ed. Approved standard Document M2-A4 Vol.10, No.7
- Nolte, A.W. 1982. *Oral Microbiology, with Basic Microbiology and Immunology*. London: The CV Mosby Company

- Purwanti Nunuk, Intan Ruspita.2003. *Peran Propolis Terhadap Pencegahan Karies Gigi*. Ceril XII : 3-2003: 40-43. Yogyakarta: UGM
- Park Y, Koo m, Abreu J, Ikegaki M, Cury J, Rosalen PL.1998.*Antibacterial Activity of Propolis on Oral Microorganism*.Curr Microbiol 36(1):24-28
- Pelezar MJ, Chan ESC. 1988.*Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: UI Press.:456-8
- Prihantiningih, T. 2005. “ Uji Zona Hambat Perasan Daun Mahkota Dewa ( *Phaleria papuana* Warb. var. *Wichannii* ) Terhadap *Lactobacillus acidophilus* “. FKG Universitas Jember.
- Rao CV, Desai D, Kaul B, Amin S and Reddy BS.1992. *effect of Caffeic Acid Esters on Carcinogen Induced Nutagenicity and Human Colon Adenocarcinoma Cell Growth*. Chem. Biol. Interact. 84(3), 921-923
- Steel dan Torrie, H, J. 1995. *Prinsip dan prosedur statistika*. Jakarta; gramedia pustaka utama.
- Wade C.1982.*Bee Propolis the Natural Answer to Cold, Sore Throaths, and Other Infections*. The American chropractor January/February.America, 28-30
- Volk, Wesley A dan Margaret F Wheeler.1990. *Mikrobiologi Dasar Edisi 5*.Alih Bahasa:Markham M.Sc.judul asli: Basic Microbiology Fifth Edition. 1984. Jakarta:EGC
- Widi Ristya, Yani Henida, Hestiyoenini Hadyanawati.2006. *Distribusi Frekuensi Penyakit Gigi dan Mulut Pasien Poli Gigi Puskesmas Berdasarkan Letal Geografis*.Indonesian journal of Dentistry: BC3: 164-167.Jakarta