

**MINIMAL INHIBITION CONCENTRATION OF EXTRACT
ETHANOL OF PROPOLIS TO *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND
*ESCHERICHIA COLI***

Enny Suswati⁽¹⁾, Dini Agustina⁽²⁾

Laboratory of Microbiology, Faculty of Medicine, University of Jember

ABSTRACT

The goal of this study is to know the minimal inhibition concentration of extract ethanol of propolis to *Staphylococcus aureus* and *Eschecheria coli* growths. The experimental laboratories research was used to measure inhibition zone which not grow after contact with extract ethanol of propolis on several concentrations with 1 second. *Staphylococcus aureus* was contact with extract ethanol of propolis that 5000 µg/ml, 2500 µg/ml, 1250 µg/ml, 625 µg/ml, 312,5 µg/ml, 156,25 µg/ml, and 78,125 µg/ml and *Eschecheria coli* was contact with extract ethanol of propolis that 5000 µg/ml, 2500 µg/ml, 1250 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml, 62,5 µg/ml and 31,25 µg/ml concentration. Each concentration was replied for 8 times. To measure the inhibition effect we measured inhibition zone which not grow after contact with extract ethanol of propolis and compared with the control. The data analyzed with one way Annova with 0.05 significancy. The result of this study shown that minimal inhibition concentration of extract ethanol of propolis to *Staphylococcus aureus* is 312,5 µg/ml and 62,5 µg/ml for *Eschecheria coli*. Conclusion of this study is the minimal inhibition concentration of extract ethanol of propolis to *Staphylococcus aureus* and *Eschecheria coli* growths is 312,5 µg/ml and 62,5 µg/ml.

Keyword: Minimal Inhibition Concentration, extract ethanol of propolis, *Staphylococcus aureus*, *Eschecheria coli*

PENDAHULUAN

Infeksi bakteri, baik oleh gram positif maupun gram negatif saat ini masih menjadi perhatian di bidang kedokteran. Bakteri-bakteri tersebut diantaranya adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

S. aureus merupakan bakteri gram positif yang sering ditemukan sebagai flora normal pada kulit, mulut, saluran pernapasan bagian atas, dan saluran pencernaan. Namun apabila *S. aureus* tidak berada pada habitat normalnya, maka dapat menyebabkan penyakit infeksi sehingga bakteri ini juga merupakan patogen utama pada manusia. Hampir semua orang pernah mengalami infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini, dengan derajat keparahan yang beragam. Impetigo dan karbunkel adalah contoh penyakit infeksi pada kulit yang banyak disebabkan oleh *S. aureus*. Infeksi oleh *S. aureus* ditandai dengan timbulnya supurasi fokal (abses), mulai dari yang ringan hingga yang fatal. Jika *S. aureus* menyebar luas maka akan menimbulkan abses pada berbagai organ dan dapat berakhir pada sepsis serta kematian (Jawetz *et al.*, 2004; Toppler, 2009).

E.coli merupakan anggota flora normal usus yang pada umumnya tidak menyebabkan penyakit dan dalam usus mungkin berperan terhadap fungsi dan nutrisi normal. Tapi, bakteri ini menjadi bersifat patogen hanya bila bakteri ini berada di luar usus. Tempat yang paling sering terkena infeksi adalah saluran kemih, saluran empedu dan tempat-tempat lain di rongga perut (Jawetz *et al.*, 2004).

Besarnya risiko dan bahaya infeksi oleh kedua bakteri ini, maka perlu dikembangkan suatu bahan yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri ini. Salah satu cara yang dapat dilakukan yaitu pemanfaatan bahan alam sebagai alternatif pengobatan. Menurut penelitian, pemanfaatan bahan alam tersebut banyak digunakan karena keberadaannya yang mudah didapat, ekonomis, dan efek samping yang minimal serta adanya kandungan yang berbeda yang memiliki efek saling mendukung secara sinergis. Namun, pemanfaatan bahan alam sebagai alternatif pengobatan juga memiliki beberapa kelemahan seperti efek farmakologisnya yang lemah, bahan baku belum terstandar, belum dilakukan uji klinik, dan berpotensi bersifat toksik (Katno dalam Pramuningtyas dan Rahadiyan, 2009). Salah satu bahan alam yang dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan yaitu propolis (Almas *et al.*, 2001).

Propolis digunakan sebagai pelindung sarang lebah sehingga sarang lebah lebih adaptif dan resisten terhadap infeksi serta penyakit lain. Manusia menggunakan propolis sebagai obat untuk berbagai macam penyakit, salah satunya digunakan sebagai antibakteri (Alfaris *et al.*, 2009; Almas *et al.*, 2001; Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2006).

Mikroorganisme yang paling sensitif terhadap propolis adalah *Shigella sonnei* (bakteri gram negatif) dan *Streptococcus mutans* (bakteri gram positif). Selain itu propolis juga memiliki efek antibakteri pada *Salmonella typhi* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Diduga salah satu kandungan propolis, yaitu flavonoid, memiliki aktivitas antibakteri (Lotfy 2006). Di dalam propolis ditemukan flavonoid sebanyak 15% dan terdiri dari 12 macam (Jaya *et al*, 2006; Jawetz *et al*, 2006; Lotfy, 2006).

Berdasarkan bukti-bukti diatas maka peneliti ingin mengetahui aktivitas anti bakteri sekaligus konsentrasi hambat minimal dari ekstrak etanol propolis terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

METODE

Jenis penelitian yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri ekstrak propolis terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *in vitro* adalah penelitian semu eksperimental (*Quasi Eksperimental*). Hal ini disebabkan karena semua sampel telah homogen sehingga tidak perlu dilakukan randomisasi. Selain itu, penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium (Budiarto, 2003; Pratiknya, 2007).

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Postest Only Control Grup Design*. Dalam rancangan penelitian ini diukur pengaruh perlakuan pada kelompok perlakuan dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol dan tidak dilakukan *pretest* (Notoatmodjo, 2005; Pratiknya, 2007). Metode uji kepekaan kuman terhadap antibakteri yang digunakan adalah metode difusi dengan cara sumuran.

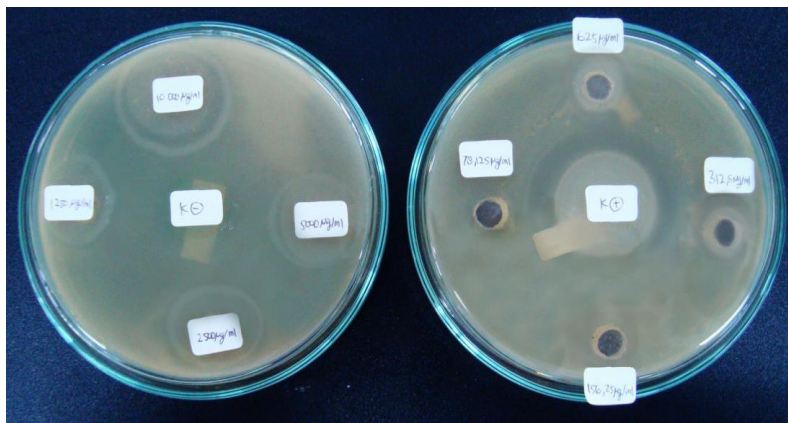
Prosedur penelitian dimulai dari pembuatan ekstrak etanol propolis dengan berbagai konsentrasi yang dilakukan di laboratorium biologi fakultas farmasi Universitas Jember. Kemudian dilanjutkan dengan pembuatan suspensi *S. aureus* dan *E. coli*. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Suspensi *S. aureus* dan *E. coli* yang dipergunakan, dibuat dengan mengambil satu ose kuman dari kultur, kemudian dimasukkan ke dalam media *Nutient Broth*, selanjutnya diinkubasi 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam suspensi kuman yang telah diinkubasi disesuaikan dengan standar 0.5 Mc Farland (1X10⁸ CFU/ml) dengan menambahkan aquades steril (Widyarto, 2009).

Langkah selanjutnya yang merupakan tahap perlakuan adalah sebagai berikut, Pencelupan lidi kapas steril ke dalam biakan cair kuman. Kemudian dilakukan pemerasan lidi kapas yang telah basah pada dinding dalam tabung. Selanjutnya lidi kapas tersebut diusapkan pada seluruh permukaan medium agar Muller Hinton, prosedur ini diulangi dua kali sambil memutar plate, kemudian plate dibiarkan 3-5 menit pada suhu ruang tetapi tidak lebih dari 15 menit, supaya medium benar-benar kering sebelum dibuat sumuran. Agar yang telah kering tersebut kemudian

dibuat sumuran dengan menempatkan 5 silinder stainless steel (diameter luar=8mm, diameter dalam=6mm) pada setiap petri disk (Bazzaz *et al.*, 2005), 4 untuk masing-masing sampel konsentrasi ekstrak propolis dan 1 untuk kontrol negatif (TEA yang dilarutkan dalam aquades steril) atau untuk kontrol positif (suspensi siprofloksasin). Pada silinder tersebut kemudian diisi dengan larutan sampel dan kontrol dengan menggunakan mikropipet sebanyak 100 mikroliter tiap silinder, selanjutnya petri disk dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam pada temperatur 37° C (Dumilah, 2009; Sabir, 2005a). Setelah diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37° C petri disk diambil dari inkubator dan diamati zona hambatan pada masing-masing petri disk. Pengamatan dilakukan dengan cara mengukur zona hambatan pertumbuhan *S. aureus* yang terjadi di sekeliling silinder pada media MH dengan menggunakan jangka sorong. Zona hambatan adalah jarak terdekat (mm) dari tepi luar silinder hingga mulai terjadinya pertumbuhan bakteri (Sabir, 2005a).

HASIL

Dari penelitian ini didapatkan nilai KHM yang diukur dari diameter zona hambat yang terbentuk pada media MH.

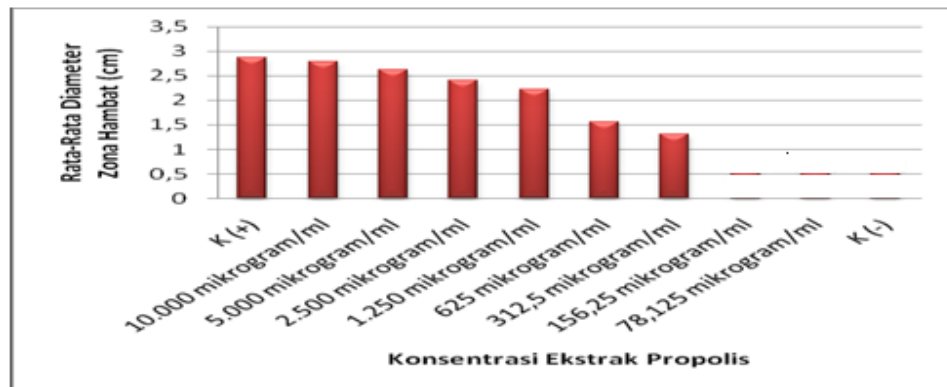


Setelah dilakukan penelitian didapatkan hasil pada tabel-tabel di bawah ini :

1. *Staphylococcus aureus*

| Serial Konsentrasi (µg/ml) | Diameter Zona Hambat (cm) | | | | | | Rata-rata (cm) |
|----------------------------|---------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|----------------|
| | I | II | III | IV | V | VI | |
| 10.000 | 2,875 | 2,8 | 2,7 | 2,66 | 2,82 | 2,83 | 2,781 |
| 5.000 | 2,83 | 2,55 | 2,55 | 2,575 | 2,71 | 2,525 | 2,623 |
| 2.500 | 2,44 | 2,34 | 2,475 | 2,415 | 2,37 | 2,36 | 2,4 |
| 1.250 | 2,22 | 2,305 | 2,44 | 2,38 | 2,05 | 1,925 | 2,22 |
| 625 | 2,21 | 2,01 | 0,8 | 1,635 | 1,92 | 0,8 | 1,563 |
| 312,5 | 1,43 | 1,875 | 0,8 | 1,28 | 1,635 | 0,8 | 1,303 |
| 156,25 | 0,8 | 0,8 | 0,8 | 0,8 | 0,8 | 0,8 | 0,8 |
| 78,125 | 0,8 | 0,8 | 0,8 | 0,8 | 0,8 | 0,8 | 0,8 |

Dari tabel dapat diketahui rata-rata diameter zona hambat terbentuk mulai dari konsentrasi 312,5 $\mu\text{g/ml}$ sampai 10.000 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan pada konsentrasi 78,125 $\mu\text{g/ml}$ dan 156,25 $\mu\text{g/ml}$ tidak terbentuk zona hambat. Bila disajikan dalam bentuk diagram batang didapatkan seperti pada gambar di bawah ini :

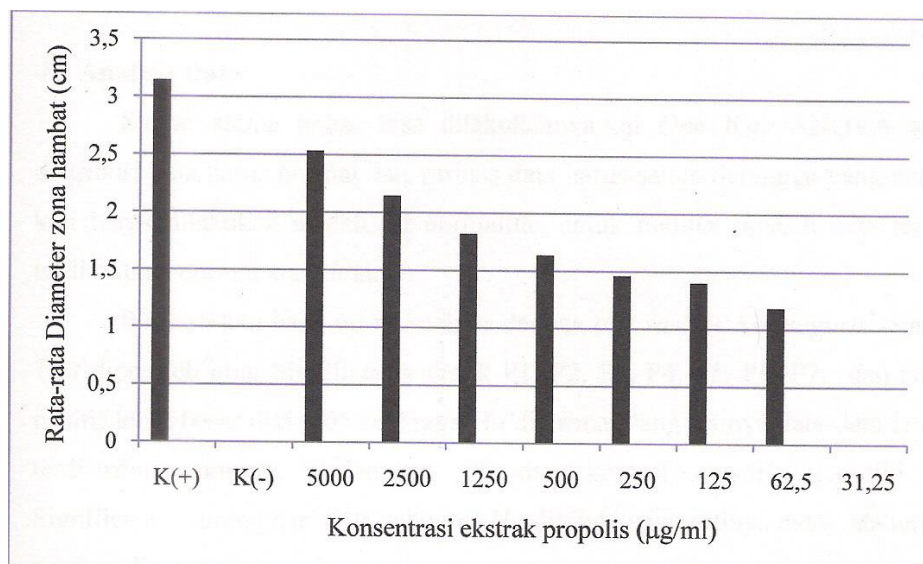


ekstrak etanol propolis thd *S.aureus* : 321,5 $\mu\text{g/ml}$

2. *Escherichia coli*

| Serial Konsentrasi (μg/ml) | Diameter Zona Hambat (cm) | | | | | | Rata-rata (cm) |
|----------------------------|---------------------------|------|------|------|------|------|----------------|
| | I | II | III | IV | V | VI | |
| 5000 | 2,50 | 2,36 | 2,56 | 2,47 | 2,48 | 2,84 | 2,535 |
| 2500 | 2,35 | 2,35 | 2,37 | 2,14 | 1,44 | 2,24 | 2,148 |
| 1250 | 2,10 | 1,87 | 2,31 | 1,81 | 1,27 | 1,56 | 1,820 |
| 500 | 1,82 | 1,56 | 1,36 | 1,55 | 1,65 | 1,89 | 1,638 |
| 250 | 1,35 | 1,52 | 1,64 | 1,33 | 1,49 | 1,44 | 1,462 |
| 125 | 1,31 | 1,47 | 1,56 | 1,24 | 1,46 | 1,37 | 1,402 |
| 62,5 | 0,92 | 1,42 | 1,10 | 0,90 | 1,38 | 1,40 | 1,187 |
| 31,25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Dari tabel dapat diketahui rata-rata diameter zona hambat terbentuk mulai dari konsentrasi 5000 $\mu\text{g/ml}$ sampai 62,5 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan pada konsentrasi 31,25 $\mu\text{g/ml}$ tidak terbentuk zona hambat. Bila disajikan dalam bentuk diagram batang didapatkan seperti pada gambar di bawah ini :



KHM ekstrak propolis thd *E.coli* : 62,5 µg/ml

DISKUSI

Bakteri yang diuji dalam penelitian ini adalah *S.aureus* yang merupakan gram positif dan *E.coli* yang merupakan gram negatif. Keduanya ternyata dapat dihambat aktivitasnya oleh ekstrak etanol propolis, dengan nilai KHM berturut-turut adalah 312,5µg/ml dan 62,5µg/ml. Mekanisme propolis dalam menghambat pertumbuhan bakteri sangat kompleks sehingga tidak dapat dianalogikan dengan mekanisme kerja suatu antibiotik tertentu. Propolis mampu menginaktivasi kerja enzim esensial pada bakteri dan mendestruksi atau menginaktivasi fungsi dari materi genetik bakteri tersebut. Propolis dapat menghambat kerja enzim *polymerase RNA* bakteri untuk melekat pada DNA sehingga replikasi DNA bakteri tidak terjadi. Selain itu, komponen tersebut juga menghambat kerja enzim *endonuklease restriksi* sehingga transkripsi tidak terjadi pada RNA dan hal ini mengakibatkan pembelahan sel bakteri tidak terjadi karena terganggunya sintesis protein.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol propolis memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *E.coli* dengan nilai KHM 312,5 µg/ml dan 62,5 µg/ml. Hal ini berarti bahwa ekstrak etanol propolis bisa dikembangkan lebih lanjut untuk digunakan sebagai obat alternatif untuk mengobati infeksi baik oleh *S. aureus* maupun *E.coli*, tapi tentu saja perlu dilakukan penelitian lanjutan misalnya uji toksisitas untuk ekstrak etanol propolis

DAFTAR PUSTAKA

- Alfaris, A. A., Abdulsamad, R. K., dan Swad, A. A. 2009. Comparative Studies between Propolis, Dexamethason, and Gentamycin Treatments of Induced Corneal Ulcer in Rabbits. *Iraqi Journal of Veterinary Sciiances*. 23 (1): 75-80.
- Almas, K., Dahlan, A., dan Mahmoud, A. 2001. Propolis as a Natual Remedy: an Update. *Saudi Dent. J.* 13 (1): 45-49.
- Almeida & Menezes. 2002. Anti-inflammatory activity of Propolis Extracts: a Review. *J. Venom. Anim. Toxins*. 8(2): 1112-1125.

- Bazzaz, Khajehkaramadin, dan Shokoheizadeh. 2005. In Vitro Antibacterial Activity of *Rheum ribes* Extract Obtained from Various Plant Parts Against Clinical Isolates of Gram-Negative Pathogens. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. (2005) 2: 87-91.
- Budiarto, E. 2003. *Metodologi Penelitian Kedokteran*. Jakarta: EGC. Halaman 17.
- Ditjen Pengendalian Penyakit & Penyehatan Lingkungan – Departemen Kesehatan R.I. 2005. *Manual Pemberantasan Penyakit Menular: Penyakit Infeksi Stafilokokus di Masyarakat*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit & Penyehatan Lingkungan Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Fernandes, Leomil, dan Sforcin. 2001. The Antibacterial Activity of Propolis Produced by *Apis mellifera* L.
- Forbes, B. A., Sahm, D. F., dan Weissfeld, A. S. 2002. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. Eleventh Edition. USA: Mosby, Inc.
- Jawetz, E., Melnick, dan Adelberg, E. A. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran*. Terjemahan Staf Pengajar Mikrobiologi FK UNAIR dari *Medical Microbiology*. Jakarta: EGC. Halaman 225-231.
- Jaya, Radiati, Awwaly, dan Kalsum. 2006. Pengaruh Pemberian Ekstrak etanol propolis terhadap Sistem Kekebalan seluler pada Tikus Putih (*Ratus norvegicus*) Strain Wistar. *Brawijaya Journal*: 1-8.
- Lotfy, M. 2006. Biological Activity of Bee Propolis in Health and Disease. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 7: 22-31.
- Notoatmodjo, S. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta. Halaman 156-172.
- Pratiknya, A. W. 2007. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Sabir, A. 2005a. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigona sp.* Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro). *Dent. J.* 38 (3): 135-141.
- Toppler, M. 2009. *Staphylococcus aureus Infection*. [serial online]. http://www.MedicineNet.com/Staph_Infection [27 Februari 2010].

Widyarto, A. N. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Keprok (*Citrus nobilis* Lour.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *UMS Journal*. 2009(1): 14.