

## UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK PROPOLIS LEBAH MADU KELULUT (TRIGONA MELINA) ASAL KEBUN RAYA UNIVERSITAS MULAWARMAN SAMARINDA (KRUS) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI SALMONELLA TYPHI DAN KLEBSIELLA PNEUMONIAE

Khoirul Anam<sup>1\*</sup>, Yuliati<sup>1</sup>, Yanti Puspita Sari<sup>2</sup>, Reni Kurniati<sup>2</sup>, Hetty Manurung<sup>2</sup>, Jusmaldi<sup>2</sup>, Ratna Kusuma<sup>2</sup>, Muhammad Fahmi Aminuddin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Teknologi Laboratorium Medis ITKES Wiyata Husada Samarinda

<sup>2</sup>Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Mulawarman

E-mail: sanambwi@yahoo.co.id/ [khoirulanam@itkeswhs.ac.id](mailto:khoirulanam@itkeswhs.ac.id)

### ABSTRACT

**Latar belakang;** Propolis merupakan resin yang dihasilkan oleh lebah madu, setelah lebah mengkonsumsi resin kuncup bunga di sekitar lingkungan hidupnya. Propolis yang dihasilkan oleh lebah menjadi sistem pertahanan lebah dari serangan bakteri. **Tujuan;** Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Klebsiella pneumoniae*. **Metode;** Metode yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang terdiri dari 9 perlakuan dan 3 ulangan. Konsentrasi ekstrak yang diujikan adalah 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6% 7% dan 0,001% ampicilin. Aktivitas antibakteri ditentukan oleh zona hambatan menggunakan metode difusi kertas cakram. **Hasil;** Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak propolis lebah madu kelulut (*Trigona melina*) menghasilkan zona hambatan antara 0 – 11,33 mm terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan pada *Klebsiella pneumoniae* menghasilkan zona hambat antara 0 – 5,60 mm. **Kesimpulan;** Ekstrak propolis *Trigona melina*, efektif untuk menghambat pertumbuhan dari bakteri *Salmonella typhi* dan *Klebsiella pneumoniae*.

Kata Kunci: Propolis, *Trigona melina*, Antibakteri, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*

### PENDAHULUAN

Lebah madu merupakan insekta sosial yang hidup dalam suatu keluarga besar yang disebut koloni. Lebah madu yang ada di Indonesia terdiri atas dua jenis yaitu, lebah madu lokal dan lebah madu dari luar negeri. Masing-masing jenis mempunyai ciri-ciri yang berbeda. Lebah madu luar negeri memiliki ukuran tubuh yang lebih besar serta mampu menghasilkan madu, royal jelly, serta tepung sari lebih banyak dibandingkan dengan lebah madu lokal. Namun lebah madu luar negeri harus memiliki perawatan yang intensif dan profesional dibandingkan dengan lebah madu lokal. Lebah madu lokal dapat hidup dan dibudidayakan secara sederhana dan tradisional (Uleander, 2009).

*Trigona* sp. (kelulut) merupakan jenis lebah kecil yang tidak menyengat

(*Stingless bee*). Lebah ini menghasilkan beberapa produk seperti madu, royal jeli, polen dan propolis. *Trigona* sp. menghasilkan madu lebih sedikit jika dibandingkan dengan lebah madu jenis *Apis* sp. dan jarang ditenakkan (Indriani, 2003). Jenis lebah madu *Trigona* sp. bernilai bukan karena madunya tetapi karena propolisnya, di mana propolis memiliki sifat antibakteri yang tinggi (Tukan, 2008). Propolis adalah salah satu dari produk lebah yang sangat efisien dari sudut pandang prinsip transmisi aktif dari tumbuhan ke manusia (Walji, 2001).

Banyak penemuan yang mengungkapkan sifat propolis, yakni sebagai bahan antibakteri, antivirus, dan antifungi dan pengobatan untuk berbagai jenis penyakit yang lain. Propolis *Trigona* spp. mengandung tanin, flavonoid, steroid

dan alkaloid. Kandungan fitokimia dari propolis *Trigona* spp. yang terdiri dari tanin, flavonoid dan steroid. Perbedaan kandungan kimia didasarkan pada waktu pengumpulan propolis dan daya dukung flora disekitarnya yang menjadi sumber resin bagi lebah madu dalam membangun sarangnya. Propolis lebah madu *Trigona* spp efektif menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Baccillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Streptococcus mutans*. Analisis fitokimia terhadap ekstrak propolis *Trigona* spp asal Pandeglang, membuktikan bahwa ekstrak propolis jenis tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa isolat bakteri usus sapi (*E. coli*, *Salmonella* sp, *Klebsiella* sp, *Campylobacter* sp, *Bacteroides* sp, *Lactoacillus casei* dan *Bifidobacterium* sp. (Lasmayanti, 2007; Tukan, 2008).

Kebun Raya Unmul Samarinda (KRUS) memiliki peternakan lebah. Jenis lebah yang dikembangkan adalah lebah madu kelulut (*Trigona*) yang memiliki jenis yang bermacam-macam. *Trigona melina* merupakan salah satu jenis lebah kelulut yang sangat mudah ditenakkan, mempunyai penampilan menarik karena memiliki warna orange yang lebih terang pada seluruh tubuhnya. Sampai saat ini belum ada penelitian tentang ekstrak propolis lebah madu kelulut jenis *Trigona melina* dan uji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Klebsiella pneumoniae*.

Tujuan penelitian ini untuk menguji fitokimia ekstrak propolis lebah madu kelulut (*Trigona melina*), dan pengujian aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Salmonella typhi* yang merupakan bakteri penyebab tifus dan *Klebsiella pneumoniae* yang merupakan jenis bakteri penyebab pneumoni yaitu infeksi akut yang menyerang jaringan paru-paru.

## METODE

### *Rancangan Penelitian*

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik dan Biokimia, Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Laboratorium Unit Penyulingan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman serta di Laboratorium Kesehatan Unit Mikrobiologi – Bakteriologi, Provinsi Kalimantan Timur.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan 8 perlakuan yaitu perlakuan konsentrasi ekstrak Propolis Kelulut (*Trigona melina*) terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Klebsiella pneumoniae* adalah sebagai berikut : K1 = 0 ppm, K2 = 1 ppm, K3 = 5 ppm, K4 = 10 ppm, K5 = 15 ppm, K6 = 20 ppm, K7 = 25 ppm dan K8 = 30 ppm, dan K Positif = larutan ampisilin. Pada setiap bakteri yang diujikan, masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali ulangan.

### Cara Kerja

#### *Pembuatan ekstrak Propolis Lebah Kelulut (Trigona melina)*

Eskstraksi propolis dari sarang lebah *Trigona melina* ini dilakukan dengan metode yang dilakukan oleh Hasan *et al.* (2006). Sebanyak 150 gr sarang lebah *Trigona melina* yang merupakan hasil dari budi daya di Kebun Raya Samarinda, dimaserasi dengan 650 ml etanol 70% (direndam sambil digojog dengan menggunakan shaker) selama 7 hari di dalam wadah erlenmeyer 1000 ml. Setelah 7 hari, filtrat didekantasi kemudian residu dimaserasi lagi dengan 50 ml etanol 70% yang baru. Proses ini dilakukan secara berulang setiap hari selama tujuh hari, hingga pelarut etanol pada residu tampak bening, sehingga pelarut yang digunakan 350 ml. Dengan demikian, total pelarut (etanol) yang digunakan adalah sebanyak 1000 ml, yaitu (650+350) ml etanol. Sedangkan total waktu maserasi adalah

selama 14 hari. Filtrat yang diperoleh kemudian dilakukan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak murni propolis. Kemudian dikeringbekukan (*freeze-dried*) hingga membentuk ekstrak padat yang kemudian digunakan untuk pengujian selanjutnya. Untuk perlakuan dilakukan pengenceran terhadap ekstrak dengan menggunakan aquadest menjadi beberapa konsentrasi yaitu 0 ppm, 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm dan 30 ppm

#### **Pembuatan Media Luria Bertani (LB)**

Media Luria Bertani (LB) dengan komposisi sebagai berikut: ditimbang NaCl sebanyak 1 gram, media Pepton sebanyak 2 gram, media Yeast ekstrak sebanyak 1 gram, dan media Agar sebanyak 3 gram. Kemudian dilarutkan dalam aquadest sampai 200 ml. Larutan dihomogenkan kemudian dipanaskan dengan api kecil hingga mendidih. Selanjutnya disterilkan dengan *autoclaf Hiclave HV – 110* suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah steril kemudian dituang ke dalam cawan petri steril sebanyak 15 ml secara aseptik lalu dibiarkan sampai memadat. Setelah memadat, disimpan di lemari pendingin.

#### **Uji Aktivitas Antibakteri**

##### **Pewarnaan Gram**

Diambil 1 koloni pada tiap jenis bakteri dari biakan pada media Luria Bertani (LB) dengan ose yang telah dipijarkan, kemudian diusapkan di atas gelas objek yang telah difiksasi dan diberi 1 tetes NaCl 0,9%. Dikering anginkan, kemudian difiksasi kembali diatas lampu bunsen. Setelah sediaan dingin ditetaskan cat warna gram A (Crystal Violet) hingga menutupi seluruh sediaan, lalu didiamkan selama 1 menit. Cat dibilas di air mengalir. Sediaan ditetaskan cat gram B (Lugol's Iodine) dan dibiarkan selama 1 menit, lalu dibilas dengan air mengalir. Sediaan ditetaskan cat gram C (Alkohol 95%)

selama 30 detik, dibilas dengan air mengalir. Sediaan ditetaskan cat gram D (Safranin) selama 2 menit, dibilas dengan air mengalir. Kemudian sediaan dikering anginkan. Diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 100.

#### **Pembuatan Suspensi Bakteri**

Diambil satu ujung ose koloni bakteri *Salmonella typhi* dan *Klebsiella pneumoniae* dari media miring LB (Luria Bertani), disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,9% steril dalam tabung sampai kekeruhannya sama dengan standard *Mc.Farland* ( $10^8$  CFU/ml). Cara membandingkan yaitu tabung standard dan tabung suspensi bakteri dipegang berhimpitan dan dibandingkan kekeruhannya. Jika kurang keruh ditambah koloni sedangkan jika lebih keruh ditambah NaCl 0,9% (Soemarno, 2000).

#### **Penanaman pada Luria Bertani (LB)**

Dengan menggunakan *cork borer* steril, dibuat lubang sumur pada media Luria Bertani (LB) dengan diameter 6 mm dan dengan jarak sekitar 2 cm untuk setiap lubang sumuran. Selanjutnya, kedalam suspensi bakteri *Salmonella typhi* dan *Klebsiella pneumoniae* yang sudah distandardisasi kekeruhannya, dicelupkan kapas lidi steril, ditunggu sebentar agar cairan meresap kedalam kapas. Kemudian lidi diangkat dan diperas dengan menekankan lidi pada dinding tabung bagian dalam sambil di putar-putar. Digores-goreskan kapas lidi pada permukaan media LB hingga seluruh permukaan tertutup rapat dengan goresan-goresan. Media LB dibiarkan selama 5 - 15 menit agar suspensi bakteri meresap kedalam agar-agar.<sup>7</sup> Ditetaskan sebanyak 50 µl ekstrak dengan berbagai konsentrasi pada lubang sumur. Selanjutnya diinkubasi pada temperatur 37 °C selama 18-24 jam.

#### **Pengukuran Diameter Zona Hambat**

Setelah 18-24 jam diukur diameter hambatannya menggunakan penggaris. Diameter zona hambat yang diukur yaitu daerah jernih disekitar lubang sumur, diukur dari ujung yang satu ke ujung yang lain melalui tengah-tengah lubang sumur. Ulangan yang dilakukan tidak pada satu petri.

**Analisis data**

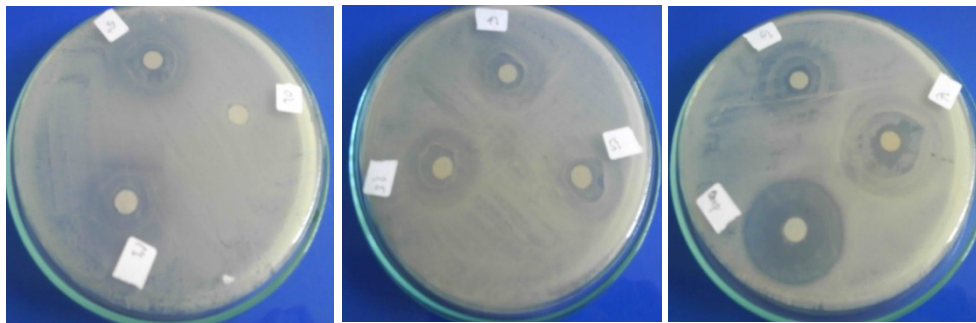
Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam (ANOVA), kemudian dilakukan uji perbandingan

dengan uji LSR (Least significance range), dengan taraf kepercayaan 99%.

**HASIL**

**Uji Aktivitas Antibakteri**

Berdasarkan hasil pengamatan pada uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak propolis lebah madu kelulut (*Trigona melina*) berbeda-beda terhadap bakteri yang diujikan. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak propolis lebah madu kelulut (*Trigona melina*) disajikan pada Gambar 1 dan Tabel 1 berikut di bawah.



Gambar 1. Zona Bening Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Propolis Lebah Madu Kelulut (*Trigona melina*)

Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak propolis lebah madu kelulut (*Trigona Melina*) terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Klebsiella pneumoniae*

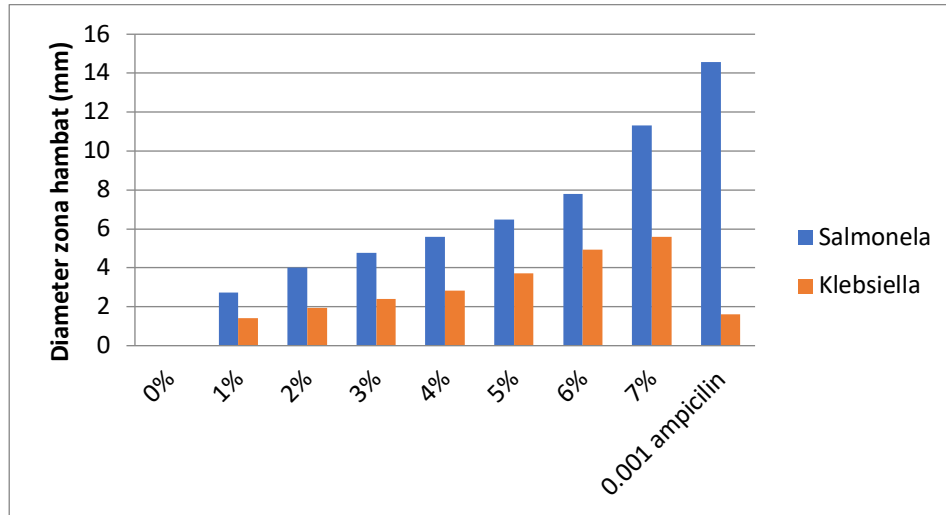
Konsentrasi Ekstrak	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
0%	0	0
1%	2,73	1,43
2%	4,00	1,93
3%	4,77	2,40
4%	5,6	2,83
5%	6,47	3,70
6%	7,80	4,93
7%	11,33	5,60
0,001 % ampicilin	14,57	1,60

Ekstrak propolis pada konsentrasi tertinggi (7%) mampu memberikan hambatan

pertumbuhan terhadap kedua jenis bakteri uji. Hal ini ditunjukkan oleh besarnya

diameter zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram untuk kedua jenis bakteri uji tersebut. Pada konsentrasi propolis yang tertinggi ini, daya hambat terbesar adalah terhadap bakteri

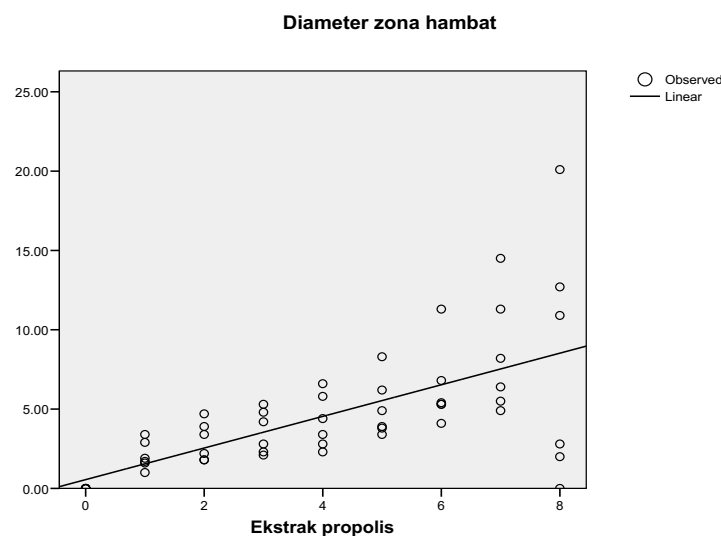
*Salmonella typhi* (11,33 mm), dan terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* adalah (5,60 mm).



Gambar 2: Grafik daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Klebsiella pneumoniae* oleh propolis *Trigona melina* asal Kebun Raya UNMUL Samarinda (KRUS).

Ekstrak propolis pada konsentrasi tertinggi (7%) mampu memberikan hambatan pertumbuhan terhadap kedua jenis bakteri uji. Hal ini ditunjukkan oleh besarnya diameter zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram untuk kedua jenis

bakteri uji tersebut. Pada konsentrasi propolis yang tertinggi ini, daya hambat terbesar adalah terhadap bakteri *Salmonella typhi* (11,33 mm), dan terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* adalah (5,60 mm).



Gambar 3. Korelasi Pengaruh ekstrak propolis lebah madu kelulut (*Trigona melina*) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Klebsiella pneumoniae*. Peningkatan konsentrasi ekstrak propolis akan memberikan efek lebih terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri.

## PEMBAHASAN

Hasil uji hambat terhadap pertumbuhan bakteri memperlihatkan bahwa Konsentrasi hambat tumbuh minimum (KHTM) dari ekstrak propolis *Trigona melina* asal Kebun Raya UNMUL Samarinda adalah sebagai berikut: pada konsentrasi 1% kedua bakteri tersebut yaitu *Salmonella typhi* dan *Klebsiella pneumonia* mampu memberikan daya hambat, dengan daya hambat lebih kuat terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Kedua bakteri ini merupakan bakteri Gram negatif mampu menghambat pada konsentrasi ekstrak propolis yang rendah ini, diduga berkaitan erat dengan sifat khasiat propolis dan perbedaan komposisi struktur dinding sel bakteri. Kedua jenis bakteri tersebut tergolong bakteri Gram negatif, dan merupakan anggota dari bakteri patogen. Karena merupakan kelompok bakteri Gram negatif, maka struktur dinding sel kedua bakteri tersebut lebih kompleks dengan beberapa lapisan, yakni peptidoglikan yang relatif tipis, yang dikelilingi oleh lapisan lipoprotein, lipopolisakarida, fosfolipid dan beberapa protein. Lapisan-lapisan ini bersifat impermeable terhadap molekul-molekul kecil seperti nukleosida, oligosakarida dan asam amino (Timotius, 1982).

Kedua bakteri kelompok Gram negatif tersebut lebih bertahan terhadap infiltrasi propolis yang menyebabkan lisis sel, jika dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini yaitu bahwa kedua bakteri Gram negatif tersebut mengalami hambatan pertumbuhan oleh ekstrak propolis *Trigona melina* asal Kebun Raya UNMUL Samarinda, meskipun pada konsentrasi yang rendah. Hal ini dapat terjadi, diduga

karena propolis *Trigona melina* asal Kebun Raya UNMUL Samarinda memiliki sifat seperti antibiotik polimiksin atau streptomiksin. Antibiotik polimiksin merupakan bahan antibiotik yang sensitif menghancurkan membran bakteri Gram negatif. Polimiksin berinteraksi kuat dengan fosfolipid membran sel, mengakibatkan kehilangan kontrol osmotik, sehingga terjadi kebocoran ion K<sup>+</sup> dan komponen vital bakteri lainnya. Penetrasinya ke dalam menjadi mudah dan merusak struktur membran sel. Kerja antibiotik jenis ini adalah merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel (Simanjuntak, 2005).

Propolis *Trigona melina* asal Kebun Raya UNMUL Samarinda memiliki kemampuan lebih aktif dan sensitive terhadap beberapa bakteri Gram negatif seperti yang ditunjukkan dalam penelitian ini. Hal ini dapat terjadi karena adanya interaksi komponen-komponen senyawa aktif dalam propolis terhadap fosfat pada fosfolipid membran sel bakteri-bakteri tersebut. Ekstrak propolis *Trigona melina* asal KRUS, lebih dominan terhadap kelompok bakteri patogen. Dari segi konsentrasi minimum dosis propolis, kelompok bakteri patogen telah terlebih dahulu dihambat pertumbuhannya (Lestradet, 1994). Propolis tidak bersifat toksik, namun sebaliknya memiliki daya antibakteri, antivirus dan antifungi yang efektif (Nuklin, 1979). Propolis juga memiliki sifat dapat merangsang sistem imunitas secara alamiah. Kemampuan ini merupakan suatu hal yang berbeda dari efek yang diberikan oleh obat-obatan sintetik.

## KESIMPULAN

Kami memberi kesimpulan bahwa Ekstrak propolis *Trigona melina*, efektif untuk menghambat pertumbuhan dari

bakteri *Salmonella typhi* dan *Klebsiella pneumoniae* dan digunakan sebagai alternatif dari antibiotik yang sudah banyak dipergunakan.

## REFERENSI

- Hasan AEZ, Artika IM, Kasno, Anggraini AD. (2006). Uji Aktivitas Antibakteri Propolis Lebah Madu *Trigona* spp. Didalam: Arifin B, Wukirsari T, Gunawan S, Wahyuni WT. Seminar Nasional HKI; Bogor, 12 September 2006. Departemen Kimia, FMIPA IPB dan Himpunan Kimia Indonesia.. 204-215
- Indriani, H. (2003). *Cara Beternak Lebah Madu dan Pemanfaatannya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Lasmayanti M. (2007). Potensi Antibakteri Propolis Lebah Madu *Trigona* Sp Terhadap Bakteri Kariogenik (*Streptococcus mutans*). Institut Pertanian Bogor. 1-32.
- Lestradet, H. (1994). Probiotiques: utilisation chez l'animal. Med. Chirur. Dig.. 23: 421-424
- Nuklin *at al.* (1979). Propolis in the Treatment of inflammatory diseases of the airways, Zh Ushn Nos Gorl Bolzen Nov-Lec.: 9-12.
- Simanjuntak CH. *Epidemiologi disentri*. Pusat Penelitian Penyakit (2005). Menular, Rattan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan R.I. Jakarta.
- Soemarno. (2000). *Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Klinik*. Yogyakarta: Akademi Analisis Kesehatan Yogyakarta..
- Timotius KH. (1982). *Mikrobiologi Dasar*. Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga.
- Tukan.G.D. (2008). *Pengaruh Propolis Trigona spp. Asal Pandeglang Terhadap Beberapa Isolat Bakteri Usus Sapi dan Penelusuran Komponen Aktifnya*. Tesis S-2. Bogor: IPB.
- Uleander, B. (2009). *Khasiat Madu di Koran Pak Oles: BAB II*. <http://madu.terapi.blogspot.com>. Diakses tanggal 05 Juni 2010
- Walji. H. (2001). *Terapi lebah daya kekuatan dan khasiat lebah, madu, dan serbuk sari bergizi bagi kesehatan*. Jakarta: Prestasi Pustaka.