



Pengaruh Konsentrasi Antibakteri Propolis terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes* secara *In Vitro*

Nihayatul Milah[✉], Siti Harnina Bintari, Dewi Mustikaningtyas

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang, Indonesia

Info Artikel

Diterima: 1 Januari 2016
Disetujui: 1 Februari 2016
Dipublikasikan: 1 Agustus 2016

Keywords:
propolis; antibacterial; Streptococcus pyogenes; faringitis

Abstrak

Propolis merupakan salah satu produk lebah madu yang memiliki banyak manfaat, salah satunya memiliki sifat sebagai antibakteri. Penelitian tentang antibakteri propolis sudah banyak dikembangkan baik di dalam negeri maupun luar negeri, namun belum ada penelitian antibakteri propolis terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* STR 10 yang bersifat Gram positif yaitu bakteri penyebab faringitis. Tujuan penelitian ini adalah menentukan pengaruh konsentrasi antibakteri propolis terhadap pertumbuhan bakteri *S. pyogenes* secara *in vitro* dan menentukan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). Propolis diencerkan sehingga didapatkan konsentrasi 100%, 50%, 25%, dan 12,5%. Uji antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi dengan empat kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan pemberian propolis 100%, 50%, 25% dan 12,5% mampu membentuk rata-rata diameter zona hambat berturut-turut yaitu 19,76 mm, 10,9 mm, 5,97 mm dan 3,3 mm. Simpulan dari penelitian ini adalah konsentrasi propolis secara *in vitro* berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *S. pyogenes*. Semakin tinggi konsentrasi propolis maka semakin kuat daya hambat bakterinya. Propolis mempunyai sifat antibakteri karena mengandung senyawa flavonoid yang bekerja dengan mengganggu permeabilitas sel bakteri. Konsentrasi penghambatan minimum propolis untuk bakteri *Streptococcus pyogenes* adalah 12,5%.

Abstract

Propolis is a natural product produced by honey bees that has many benefits, one of them is it has antibacterial properties. Research on antibacterial propolis has been developed both domestically and abroad, but there is still no research about antibacterial propolis against Gram-positive bacteria namely Streptococcus pyogenes, bacteria that cause pharyngitis. The purpose of this research was to determine the effect of antibacterial concentration of propolis on the growth of S. pyogenes bacteria by in vitro and to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC). Liquid propolis sample was diluted using a dilution series to get propolis with a concentration of 100%, 50%, 25%, and 12.5% for antibacterial testing against the bacteria S. pyogenes STR 10. Antibacterial test in this research was used diffusion method with four replication to determine MIC. The results showed that propolis treatment 100%, 50%, 25% and 12.5% formed the average inhibition zone diameter 19.76 mm, 10.9 mm, 5.97 mm and 3.3 mm, respectively. The conclusion of this research is the concentration of propolis antibacterial affect the growth of S. pyogenes bacteria by in vitro. Higher concentration of propolis give the effect of stronger the inhibition of bacteria growth. Propolis has antibacterial properties due to their flavonoids contained which work by disrupting the bacterial cell permeability. The MIC of propolis for the S. pyogenes is 12.5%.

© 2016 Universitas Negeri Semarang

[✉] Alamat korespondensi:
Gedung D6 Lt.1 Jl Raya Sekaran Gunungpati, Semarang
E-mail: nihayatulmilah26@gmail.com

p-ISSN 2252-6277
e-ISSN 2528-5009

PENDAHULUAN

Propolis merupakan salah satu produk alami yang dihasilkan lebah madu dan telah banyak dimanfaatkan sebagai obat atau suplemen, pencuci mulut, antiperadangan, terapi penyakit, mempercepat penyembuhan luka, dan lain-lain. Selain itu, propolis banyak memiliki manfaat dan potensi khusus, karena memiliki sifat sebagai antibakteri, antivirus, dan dapat menghambat pertumbuhan kanker (Salatino *et al.* 2005). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa antibakteri propolis lebih efektif terhadap bakteri Gram positif daripada bakteri Gram negatif (Dobrowolski *et al.* 1991; Yaghoubi *et al.* 2007). Pengetahuan keefektifan antiseptik propolis sudah diketahui sejak lama. Aristoteles telah menyarankan penggunaan propolis untuk merawat abses dan luka (Salatino *et al.* 2005). Propolis Meksiko dapat menyembuhkan luka pada kulit kuda dengan perlakuan selama empat minggu (Rodriguez *et al.* 2016). Perkembangan penelitian tentang propolis masih belum cukup banyak bukti bahwa propolis mampu mengatasi penyakit infeksi.

Beberapa penelitian mengenai *minimum inhibition concentration* (MIC) antibakteri propolis telah dilakukan terhadap beberapa bakteri Gram positif. Penelitian Lasmayanty (2007) menunjukkan bahwa ekstrak propolis 6,25% adalah MIC untuk bakteri karies pada gigi yaitu *Streptococcus mutans*. Nilai MIC antibakteri propolis lebah *Trigona sp.* terhadap bakteri *Enterobacter sakazakii* penyebab nekrosis usus dan radang selaput otak adalah 12,5% (Fitriannur 2009). Santoso *et al.* (2012) menyatakan bahwa MIC larutan propolis untuk bakteri *Enterococcus faecalis* penyebab bakteremia, endokarditis, meningitis dan infeksi uriner adalah 6,25%. Penelitian Cindrakori (2015) menunjukkan bahwa ekstrak propolis 10% masih mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* yaitu salah satu bakteri penyebab infeksi pada gigi dengan zona hambat 6,17 mm. Shabbir *et al.* (2016) menyatakan bahwa propolis mempunyai aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen pada gigi yaitu *Porphyromonas asaccharolytica*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* dan *Prevotella melaninogenica* dan sampai sekarang belum ada penelitian tentang antibakteri propolis terhadap *Streptococcus pyogenes*.

Melihat masalah tentang antibakteri propolis ini, maka perlu penelitian lebih lanjut mengenai antibakteri propolis terhadap bakteri penyebab infeksi saluran pernafasan atau *farinitis* yang disebabkan oleh bakteri *S. pyogenes*.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September-Oktober 2016 di Laboratorium Teknologi Pangan Universitas Katolik (UNIKA) Soegijapranata Semarang dan Laboratorium Central Rumah Sakit Nasional Diponegoro (RSND) Universitas Diponegoro Semarang. Konsentrasi propolis pada penelitian ini ditentukan berdasarkan uji pendahuluan dan berdasarkan penelitian Fitriannur (2009) yang menunjukkan bahwa MIC propolis terhadap *Enterobacter sakazakii* adalah 12,5%, sehingga pada penelitian ini digunakan konsentrasi 100%, 50%, 25% dan 12,5%. Propolis yang digunakan dalam penelitian ini diuji total flavonoid di Laboratorium Teknologi Pangan Universitas Katolik (UNIKA) Soegijapranata Semarang. Penelitian mengenai antibakteri ini mempunyai variabel terikat yaitu zona hambat propolis terhadap pertumbuhan bakteri *S. pyogenes* dengan beberapa variabel kendali yaitu suhu 37°C, media BAP menggunakan darah manusia, konsentrasi suspensi bakteri 10⁸ CFU/ml dan waktu inkubasi 24 jam.

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan pengelompokan berdasarkan konsentrasi propolis dan pengulangan sebanyak empat kali. Pengumpulan data dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat setiap kelompok perlakuan.

Data yang diperoleh dari penelitian ini adalah data kuantitatif yaitu diameter zona hambat (mm). Indikator antibakteri yang diberikan propolis terhadap *S. pyogenes* diperoleh dari ada tidaknya zona hambat pada media BAP, akan dikatakan bersifat bakterisidal atau bakteriostatik, oleh karena itu analisis data yang digunakan adalah deskriptif kuantitatif dengan uji *One Way Anova*, kemudian jika pada hasil analisis nilai signifikan yang diperoleh <0,05 maka dilanjutkan dengan uji *Least Significance Difference* (LSD) untuk

mengetahui beda nyata antar kelompok perlakuan. Klasifikasi daya hambat pertumbuhan bakteri mengikuti Greenwood (1995).

Tabel 1. Klasifikasi daya hambat pertumbuhan bakteri (Greenwood 1995)

Diameter Zona Hambat (mm)	Daya Hambat
>20	Kuat
16 – 20	Sedang
10 – 15	Lemah
<10	Tidak ada

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini telah membuktikan bahwa propolis mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. pyogenes* STR 10 yang merupakan bakteri penyebab infeksi saluran pernafasan atau faringitis dengan konsentrasi propolis yang paling efektif adalah 100%. Hasil pengukuran diameter zona hambat propolis pada setiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 2. Diameter zona hambat setiap kelompok perlakuan

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)	Daya Hambat
K+	26,82	Kuat
100%	19,76	Sedang
50%	10,9	Lemah
25%	5,97	Tidak ada
12,5%	3,3	Tidak ada
K-	0	Tidak ada

Berdasarkan data hasil perlakuan setiap kelompok pada Tabel 1 dapat dikatakan bahwa zona hambat yang terbentuk pada setiap kelompok perlakuan berbeda, maka dilakukan uji *One Way Anova* untuk mengetahui pengaruh konsentrasi propolis terhadap zona hambat yang terbentuk.

Tabel 3. Ringkasan hasil uji *One Way Anova*

Diameter Zona Hambat	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F Hitung	Sig.
Antar Kelompok	2.130.329	5	426.066	6,608	0,00
Dalam Kelompok	1.161	18	0.064		
Total	2.131.490	23			

Berdasarkan data hasil uji *One Way Anova* pada Tabel 2 diperoleh F hitung 6,608 yang lebih besar dari F tabel maka H_0 ditolak dan H_1 diterima yang artinya ada pengaruh konsentrasi propolis terhadap diameter zona hambat yang terbentuk. Hasil uji lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan bahwa zona hambat antar kelompok berbeda nyata dengan signifikansi 95%.

Berdasarkan data Tabel 1 dapat dikatakan bahwa propolis mempunyai kemampuan antibakteri yang sedang hingga lemah. Propolis 100% mempunyai daya hambat yang sedang karena diameter zona hambat yang terbentuk adalah 19,76 mm, propolis dengan konsentrasi 50% mempunyai daya hambat lemah yaitu dengan diameter zona hambat 10,9 mm, sedangkan propolis 25% dan 12,5% tidak memiliki daya hambat terhadap *S. pyogenes* STR 10 karena diameter zona hambat yang terbentuk kurang dari 10 mm, berdasarkan klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri menurut Greenwood (1995) pada Tabel 1. Berdasarkan Tambekar dan Dahikar (2010) propolis dapat digunakan sebagai antibakteri karena antibakteri dikatakan peka terhadap bakteri jika memiliki diameter zona hambat lebih dari 12 mm. Pengujian total flavonoid sebagai uji konfirmasi adanya senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri dalam penelitian ini menunjukkan bahwa total flavonoid dalam propolis adalah 2758,092 ppm yang setara dengan 2,758 gr/L.

Berdasarkan hasil uji yang dilakukan maka dapat dikatakan bahwa propolis dengan konsentrasi rendah mempunyai daya hambat yang lemah, dan semakin tinggi konsentrasi propolis semakin luas pula

zona hambat yang terbentuk yang berarti bahwa propolis mempunyai daya hambat semakin kuat terhadap bakteri *S. pyogenes* STR 10, dan MIC antibakteri propolis terhadap *S. pyogenes* adalah 12,5%.

Aktivitas antibakteri pada propolis dikarenakan adanya zat aktif flavonoid yang telah dikenal sebagai antibakteri. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia $C_{15}H_{10}N_8O_7S_3$ (NCBI 2017). Fenol adalah senyawa yang mengandung gugus hidroksil pada cincin karbon, yang berfungsi sebagai antimikroba dan antivirus (Redha 2010). Flavonoid dengan sifat antibakterinya diketahui memiliki multipel target pada sel bakteri dan tidak memiliki target spesifik (Cushnie *et al.* 2003).

Terdapat beberapa pendapat yang berbeda tentang mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri dari tahun ke tahun. Penelitian Mori *et al.* (1987) menyatakan bahwa flavonoid menghambat sintesis DNA dan RNA bakteri gram positif. Flavonoid bekerja dengan menghambat sintesis asam nukleat, mengganggu fungsi membran sitoplasma dan metabolisme energi bakteri (Cushnie & Lamb 2005). Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri dan lisosom karena adanya reaksi antara flavonoid dan DNA bakteri.

Sabir (2005) dalam penelitiannya mendapatkan bahwa flavonoid mampu melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri, selain itu juga menghambat motilitas bakteri. Ada juga yang berpendapat mekanisme flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri yaitu berawal dari adsorpsi melalui ikatan hidrogen. Kadar rendah fenol mengakibatkan terbentuknya ikatan kompleks protein fenol yang lemah kemudian diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan mengakibatkan presipitasi serta denaturasi protein, sedangkan fenol kadar tinggi menyebabkan koagulasi protein dan lisis sel (Marczyk *et al.* 2005; Erywiyatno *et al.* 2012). Berdasarkan beberapa penelitian yang berkembang hingga sekarang banyak yang menyatakan bahwa mekanisme kerja flavonoid yang merupakan turunan dari fenol adalah mendenaturasi protein.

Propolis dengan konsentrasi 50% ke bawah tidak dianjurkan untuk proses penyembuhan faringitis karena hasil analisis data menunjukkan bahwa propolis 50% berbeda signifikan dengan propolis 100% maka jika dua penderita faringitis diberi perlakuan propolis 50% dan salah satu lainnya diberi perlakuan propolis 100% hasilnya akan berbeda signifikan juga. Propolis dapat dikonsumsi kapanpun tanpa khawatir *overdosis*, karena propolis adalah produk herbal. Peran propolis dalam penyembuhan penyakit infeksi tidak hanya berperan sebagai antibakteri tetapi juga berperan sebagai imunostimulan.

SIMPULAN

Konsentrasi antibakteri propolis secara *in vitro* berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* yaitu semakin tinggi konsentrasi antibakteri propolis maka semakin kuat daya hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri tersebut secara *in vitro*. Minimum inhibition concentration (MIC) antibakteri propolis terhadap *Streptococcus pyogenes* adalah 12,5%, dan produk propolis dapat digunakan sebagai antibakteri sampai pada konsentrasi 100%.

DAFTAR PUSTAKA

- Cindrakori HN. 2015. Efektivitas Ekstrak Propolis *Trigona sp* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis* Skripsi. Makassar: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
- Cushnie TPT, Hamilton VES & Lamb AJ. 2003. Assessment of the antibacterial activity of selected flavonoids and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiol Res* 158: 281-289.
- Cushnie TPT & Lamb AJ. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents* 26: 343-356.
- Dobrowolski JW, Vohora SB, Sharma K, Shah SA, Naqvi SAH & Dandiya PC. 1991. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol* 35: 77-82.
- Erywiyatno L, Djoko SSBU & Krihariyani D. 2012. Pengaruh madu terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. *Analisis Kesehatan Sains* 1(1): 30-37.
- Fitriannur. 2009. Aktivitas Antibakteri Propolis Lebah *Trigona* spp. asal Pandeglang terhadap *Enterobacter sakazakii* Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Greenwood D. 1995. *Antibiotics Susceptibility (Sensitivity) Test, Antimicrobial and Chemotherapy*. United State of America: Mc Graw Hill Company.
- Lasmayanty M. 2007. Potensi Antibakteri Propolis Lebah Madu *Trigona* sp. terhadap Bakteri Kariogenik (*Streptococcus mutans*). *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Marczyk G, Dematteo D & Festinger D. 2005. *Essentials of Research Design and Methodology*. New Jersey: Jhon Wiley & Sons, Inc.
- Mori A, Nishino C, Enoki N & Tawata S. 1987. Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochem*, 26: 2231-2234.
- National Center for Biotechnology Information. Ceftriaxone. On line at <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5479530#section=Top>> [diakses 13 Maret 2017].
- Redha A. 2010. Flavonoid: Struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. *J Belian* 9(2): 196-202.
- Rodriguez IDFS, Monteagudo MM, Orozco AL & Sanchez TAC. 2016. Use of mexican propolis for the topical treatment of dermatomycosis in horses. *Sci Res Pub* 6: 1-8.
- Sabir A. 2005. Aktivitas antibakteri flavonoid propolis *Trigona* sp. terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (*in vitro*). *Dental J* 38(3): 135-141.
- Salatino A, Teixeira EW, Negri G & Message D. 2005. Origin and chemical variation of brazilian propolis. *eCAM* 2:33-38.
- Santoso ML, Sudirman A & Setyowati L. 2012. Konsentrasi hambat minimum larutan propolis terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. *PDGI* 61(3): 96-101.
- Shabbir A, Rashid M & Tipu HN. 2016. Propolis, a hope for the future in treating resistant periodontal pathogens. *Cureus* 8(7): 2-12.
- Tambekar DH & Dahikar SB. 2010. Exploring antibacterial potential of some ayurvedic preparations to control. *J Chem Pharmaceut Res* 2(5): 494-501.
- Yaghoubi SMJ, Ghorbani GR, Soleimani ZS & Satari R. 2007. Antimicrobial activity of iranian propolis and its chemical composition. *DARU* 15(1): 45-48.