

Uji Efek Antibakteri Propolis terhadap *Escherichia Coli* Dan *Shigella Dysenteriae* Secara *In Vitro*

Roni Ferdi¹, Mgs.Irsan Saleh², Theodorus², Salni³

¹ Program Studi Ilmu Biomedik Bidang Kajian Utama Farmakologi, Fakultas Kedokteran Unsri, Palembang

² Program Studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Unsri, Palembang

³ Program Studi Pengelolaan Lingkungan PPs Unsri, Palembang

Ferdi3r@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri yang sering menjadi penyebab diare infeksi adalah *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. Penggunaan antibiotik yang berlebihan dan kurang rasional pada kasus diare mendorong terjadinya perkembangan resistensi patogen multi obat. Propolis merupakan salah satu solusi untuk mengatasi infeksi diare. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kemampuan efek antibakteri ekstrak propolis terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* dalam pengujian secara *in vitro* dengan berbagai konsentrasi. Penelitian eksperimen laboratorium secara *in vitro*. Sampel dalam penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* dengan tahapan penelitian dimulai dari proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi bertingkat. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi fraksi n-heksan terkecil yang masih menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* adalah 250 µg/ml dan konsentrasi ini dinyatakan sebagai nilai KHM. Uji kesetaraan konsentrasi 250 µg/ml fraksi n-heksan propolis setara dengan 4,0 µg/ml *ciprofloxacin* terhadap *Escherichia coli* dan setara dengan 4,6 µg/ml *ciprofloxacin* terhadap *Shigella dysenteriae*, sedangkan uji kesetaraan konsentrasi 250 µg/ml fraksi etil asetat propolis setara dengan 5,2 µg/ml *ciprofloxacin* terhadap *Escherichia coli* dan setara dengan 4,5 µg/ml *ciprofloxacin* terhadap *Shigella dysenteriae*. Kesimpulan penelitian ini adalah Ekstrak n-heksan dan etil asetat propolis memiliki efektifitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. Fraksi n-heksan dan etil asetat propolis memiliki aktivitas antibakteri yang lebih rendah jika dibandingkan dengan *ciprofloxacin* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. Senyawa antibakteri yang terdapat dalam fraksi n-heksan dan etil asetat propolis adalah flavonoid dan fenol.

Kata kunci: Efek antibakteri, propolis, *ciprofloxacin*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*

ABSTRACT

The bacteria that often cause infectious diarrhea are *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae*. Excessive and less rational use of antibiotics in diarrhea cases encourages the development of multi drug pathogen resistance. Propolis is one solution to overcome diarrheal infections. The purpose of this study was to determine the ability of the antibacterial effects of propolis extract on *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae* bacteria in *in vitro* testing with various concentrations. Research in laboratory experiments *in vitro*. The sample in this study was the bacteria *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae* with the stages of research starting from the extraction process carried out using a multilevel extraction method. The results showed that the smallest concentration of n-hexane fraction which still inhibited the growth of *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae* bacteria was 250 µg / ml and this concentration was expressed as KHM value. The equality test of 250 µg / ml n-hexane propolis fraction was equivalent to 4.0 µg / ml *ciprofloxacin* to *Escherichia coli* and equivalent to 4.6 µg / ml *ciprofloxacin* against *Shigella dysenteriae*, while the equality test concentration of 250 µg / ml ethyl acetate propolis equivalent to 5.2 µg / ml of *ciprofloxacin* against *Escherichia coli* and equivalent to 4.5 µg / ml of *ciprofloxacin* against *Shigella dysenteriae*. The conclusion of this study is that n-hexane extract and ethyl acetate propolis have antibacterial effectiveness against *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae*. The n-hexane and ethyl acetate propolis fractions have lower antibacterial activity compared to *ciprofloxacin* in inhibiting the growth of *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae*. Antibacterial compounds contained in the n-hexane fraction and ethyl acetate propolis are flavonoids and phenol

Keywords : propolis, antibacteria, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*

PENDAHULUAN

Diare masih menjadi masalah kesehatan dunia, baik di negara maju maupun di negara berkembang. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) memperkirakan terdapat 4 milyar kasus diare terjadi di dunia pada tahun 2000 terdapat 2,2 juta kasus diantaranya meninggal dunia, sebagian besar anak - anak dibawah usia 5 tahun¹. Penyakit diare hingga saat ini masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di Indonesia khususnya di daerah - daerah miskin. Frekuensi kejadian diare pada negara-negara berkembang termasuk Indonesia lebih banyak 2–3 kali dibandingkan dengan negara maju²⁸. Profil kesehatan Indonesia 2011 menunjukkan bahwa dari sepuluh penyakit utama pada pasien rawat inap di rumah sakit penyakit diare dan gastroenteritis oleh karena penyebab infeksi tertentu menempati urutan pertama dengan jumlah 71889 orang, jumlah kematian sebanyak 1289 orang atau kasus *Case Fatality Rate* (CFR) 1,79 %⁸.

Berdasarkan data laporan surveilans terpadu penyakit (STP) Sumatera Selatan yang menemukan bahwa diare merupakan penyakit yang paling sering ditemukan (56,2%) baik di pelayanan kesehatan berbasis puskesmas maupun berbasis rumah sakit. Selain itu data dari Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Selatan menunjukan bahwa penderita diare terbanyak di Palembang yaitu 28.891 kasus diare yang terjadi pada balita dari 54.612 dari kasus diare yang ada⁷. Sedangkan kasus diare yang paling banyak ditemukan pada pasien yang berobat di RSMH Palembang adalah kasus dengan diare akut³⁵. Diare merupakan buang air besar encer lebih dari 3 kali perhari, bisa atau tanpa disertai lendir dan darah. Gejala klinis diare meliputi keluhan abdomen seperti mulas sampai nyeri seperti

kolik, mual, muntah, demam, bisa juga disertai dehidrasi.

Berat ringanya diare dipengaruhi juga oleh faktor penyebabnya. Jika disebabkan oleh bakteri apabila tidak di atasi secara lebih lanjut maka bakteri penyebab diare tersebut dapat masuk dan menyebar ke aliran darah dan mengakibatkan infeksi di organ tubuh lain selain pencernaan seperti pada otak¹⁷. Bakteri yang sering menjadi penyebab diare infeksi adalah bakteri *Escherichia coli*, dan *Shigella dysenteriae*³.

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang bersifat flora normal dalam tubuh kita, tetapi ada beberapa strain dari *Escherichia coli* yang bisa bersifat patogen bagi manusia dan dapat menyebabkan gangguan sistem pencernaan terutama pada usus besar manusia yang dapat menyebabkan terjadinya diare, sedangkan *Shigella dysenteriae* bersifat fakultatif anaerobik dimana habitat alamiah terbatas pada saluran pencernaan manusia, dan menghasilkan racun yang dapat menyerang permukaan usus besar, menyebabkan pembengkakan, luka pada dinding usus bahkan bisa terjadi infeksi dan pada akhirnya menyebabkan diare berdarah¹⁷.

Penanganan diare infeksi oleh bakteri secara umum memerlukan pemberian zat anti bakteri . Pemberian antibiotik adalah alternatif utama untuk mencegah menyebarnya bakteri penyebab diare keseluruh tubuh dan mematikan bakteri tersebut²⁷. Namun penggunaan antibiotik yang berlebihan dan kurang rasional mendorong terjadinya perkembangan resistensi patogen multi obat serta dapat menimbulkan toksisitas¹⁸. Kejadian resistensi terhadap antibiotik terus meningkat membuat orang berpikir untuk kembali ke gaya hidup *back to nature* dan mencari upaya kuratif alternatif terhadap antibakteri.

Dampak dari pemberian antibiotik yang berlebihan dan kurang rasional tentu saja bisa menimbulkan efek yang tidak baik bagi kesehatan manusia sehingga perlu dicarikan solusi pengobatan alternatif yang lebih terjangkau dan aman digunakan. Salah satu caranya adalah dengan terus melakukan pencarian bahan bioaktif dan senyawa antibakteri baru supaya didapatkan senyawa aktivitas antibakteri yang lebih baik sehingga dapat dibuat sebagai bahan aktif obat dan dapat menyembuhkan penyakit yang disebabkan oleh bakteri¹⁶.

Propolis merupakan zat perekat yang dikumpulkan oleh lebah pekerja dari berbagai bagian tumbuh-tumbuhan yang dihinggapinya mulai dari pucuk tanaman, serbuk sari bunga dan daun. Bagian dari tumbuhan tersebut kemudian dicampur dengan enzim yang terdapat dalam kelenjar ludah lebah dan diproses menjadi lentur sehingga terbentuk propolis⁵⁵. Komposisi utama propolis dalam bentuk resin mengandung komponen utama yaitu flavonoid, serta senyawa fenolik dan terpenoid sebagai ester yang mempunyai kemampuan antimikroba²².

Flavonoid merupakan senyawa utama yang terkandung di dalam propolis yang mampu menghambat pertumbuhan aktivitas mikroba dengan bekerja sebagai penampung radikal hidroksi dan superoksida sehingga dapat melindungi membran lipid dari kerusakan yang berguna untuk melindungi tubuh manusia dari serangan bakteri dan meningkatkan imunitas tubuh dengan menstimulir produksi antibodi²⁶.

Senyawa fenolik dan terpenoid juga menunjukkan aktivitas antimikroba walaupun bukan komposisi utama dan hanya sebagai ester dalam propolis kedua senyawa ini bekerja dengan menembus dan merusak dinding sel serta mendenaturasi protein enzim dalam sitoplasma dengan membentuk ikatan hydrogen pada sisi aktif enzim dan bisa mengurangi permeabilitas dinding sel sehingga pertumbuhan bakteri terhambat²³.

Beberapa penelitian terhadap propolis telah dilakukan baik secara *in vitro* maupun *in vivo* dan hasilnya menunjukkan bahwa propolis memiliki aktivitas biologis dan farmakologis antara lain bersifat antibakteri¹⁴.

Propolis telah banyak beredar di Indonesia serta digunakan oleh masyarakat untuk berbagai penyakit diantaranya untuk mengatasi infeksi diare. Tentu saja hal ini harus dibuktikan secara ilmiah mengenai khasiat dan pemanfaatan propolis terutama sebagai antibakteri terhadap penyakit diare. Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan maka perlu dilakukan penelitian uji efek propolis sebagai antibakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*. Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi aktifitas antibakteri pada propolis yang dapat menghambat *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

METODE

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental di laboratorium dengan menguji konsentrasi ekstrak propolis terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* secara *in vitro* untuk mengetahui daya hambat antimikroba yang ditandai dengan zona hambatan pertumbuhan bakteri tersebut. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bersama Program Pasca Sarjana (PPS) Universitas Sriwijaya.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* yang diperoleh dari PT Bioframa Bandung Jawa Barat.

Alat dan Bahan

Kromatografi cair vakum (KCV), soxhlet, spektrofotometer, oven, pinset, sonde, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, labu Erlenmeyer, lampu Bunsen, mikropipet, pipet erologis, jangka

sorong, kertas cakram diameter 6 mm, jarum ose, botol fial, botol selai, autoklaf, botol hitam, rotavor, laminar air flow, penangas air, aluminium foil, timbangan analitik, kulkas, vortex, cawan petri, magnetic stirer, kapas, kertas filter (Whatman Filter) dan alat tulis.

Bahan utama dalam penelitian ini adalah propolis yang dipasarkan oleh PT. MSS dengan Register Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (Badan POM RI) nomor POM TI. 124 646 701 dalam kemasan botol plastik berisi 6 ml cairan propolis (1 ml mengandung 900 mg propolis liquid). Selain propolis, dibutuhkan juga bahan-bahan lain meliputi: *Ciprofloxacin*, aquadest, larutan N-Heksan, larutan etil-asetat, dan larutan etanol, kultur bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*, Media agar McConkey, Agar Mueller Hinton, larutan McFarland 0,5%, Nutrient Broth (NB), Nutrient Agar (NA), alkohol, aquadest, larutan fisiologis, silica gel GF 254.

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah nutrient agar (NA) dan Nutrient Broth (NB). Nutrient Agar (NA) digunakan untuk pembiakan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* sedangkan media cair Nutrient Broth (NB) digunakan untuk pembiakan murni bakteri yang akan diinokulasikan pada medium lempeng.

Proses ekstraksi propolis dilakukan dengan tehnik ekstraksi bertingkat. Propolis disiapkan sebanyak 120 ml yang dibagi menjadi dua bagian yaitu 20 ml sebagai bahan untuk uji aktifitas antibakteri propolis murni dan 100 ml untuk bahan ekstraksi bertingkat. 100 ml propolis murni tersebut akan dilakukan ekstraksi bertingkat dengan cara diencerkan terlebih dahulu dengan aquabidest dengan perbandingan Propolis : Aquabidest (1:1), sehingga didapatkan hasil pengenceran sebanyak 200 ml.

Hasil pengenceran tersebut dicampurkan dengan larutan n-heksan dengan perbandingan 1:1, lalu dikocok

selama 5–10 menit sehingga sebagian senyawa di dalam propolis akan terikat oleh larutan n-heksan, kemudian dilakukan pemisahan tingkat pertama. Pemisahan tingkat pertama ini dilakukan sampai 3 kali pengulangan. Setelah 3 kali pengulangan maka akan didapatkan ekstrak propolis n-heksan sebanyak ± 300 ml. Sisa dari pemisahan n-heksan sejumlah ± 100 ml, selanjutnya dicampur lagi dengan larutan etil-asetat dengan perbandingan 1:1, kemudian dikocok lagi selama 5–10 menit sehingga sebagian senyawa di dalam propolis akan terikat oleh larutan etil asetat, selanjutnya dilakukan pemisahan tingkat kedua. Pemisahan tingkat kedua dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Setelah 3 kali pengulangan maka akan didapatkan ekstrak propolis etil asetat sebanyak ± 300 ml. Sisa dari pemisahan etil asetat sejumlah ± 100 ml kemudian dicampur lagi dengan larutan metanol dengan perbandingan 1:1, selanjutnya dikocok selama 5–10 menit sehingga sebagian senyawa pada propolis akan terikat oleh metanol, kemudian dilakukan pemisahan tingkat ketiga. Pada pemisahan tingkat ketiga ini juga dilakukan 3 kali pengulangan sehingga didapatkan ekstrak propolis metanol sebanyak ± 300 ml. Setelah proses pemisahan tersebut dilakukan, maka akan terdapat 4 jenis cairan yaitu 20 ml propolis murni, 300 ml ekstrak propolis n-heksan, 300 ml ekstrak propolis etil-asetat dan 300 ml ekstrak propolis metanol. Selanjutnya ke 4 jenis cairan tersebut dilakukan pemisahan dari bahan pelarutnya dengan cara penguapan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu $\pm 70^{\circ}\text{C}$ dengan kecepatan 2–3 rpm. Setelah proses penguapan maka didapatkan 4 jenis pasta propolis, yaitu pasta propolis murni, pasta propolis n-heksan, pasta propolis etil-asetat, dan pasta propolis metanol. Lalu dari masing-masing pasta tersebut dilakukan pengujian aktifitas antibakteri. Tujuan pengujian ini adalah untuk menentukan

ekstrak propolis yang aktif sebagai bahan antibakteri.

Penentuan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan dengan cara metode difusi agar dengan menggunakan kertas cakram dengan diameter 6 mm. Prosedur kerja penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari masing-masing ekstrak aktif propolis, termasuk cairan propolis murni, yaitu dengan cara membuat larutan dengan konsentrasi 4000 µg/ml, 2000 µg/ml, 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, dan 125 µg/ml.

Suspensi bakteri dengan transmittan 25% pada panjang gelombang 580 nm dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 0,1 ml dan kemudian ditambahkan medium nutrient agar (NA) 10 ml yang belum membeku. Ke dalam medium dimasukkan kertas cakram berdiameter 6 mm dan ditetesi dengan larutan ekstrak propolis sebanyak 10 µl dengan menggunakan mikropipet. Lalu media diinkubasi selama 24 jam pada inkubator dengan suhu 37°C, setelah 24 jam diukur diameter hambat yang terbentuk²⁴.

Uji kesetaraan propolis dengan antibiotik *ciprofloxacin* dilakukan dengan cara memasukkan data diameter hambatan ke dalam kurva standar *ciprofloxacin*. Untuk menentukan diameter hambatan *ciprofloxacin* dibuat dengan konsentrasi 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 50 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml. Kemudian larutan ini diujikan terhadap pertumbuhan koloni bakteri dengan metode difusi agar dan diulang sebanyak lima kali ulangan lalu dibuat kurva standar antara diameter hambatan dengan log konsentrasi antibiotik *ciprofloxacin*.

HASIL

Ekstraksi Propolis Bertingkat

Dalam penelitian ini, dilakukan ekstraksi bertingkat dengan menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol air dengan sifat kepolaran pelarut yang berbeda-beda

masing-masing sebanyak 1 liter secara bertahap, kemudian dari masing-masing ekstrak pelarutnya diuapkan dalam lemari asam sehingga didapatkan masing-masing ekstrak dalam bentuk pasta. Hasil ekstraksi bertingkat dapat dilihat pada Tabel 1 berikut :

Tabel 1 . Hasil Ekstraksi bertingkat Propolis

No	Pelarut	Berat Ekstrak (gram)	Persen Berat (%)
1	N-heksan	23,5	31,9
2	Etil asetat	34,0	47,2
3	Metanol air	15,0	20,8

Dari hasil ekstraksi bertingkat terdapat perbedaan berat ekstrak yang dihasilkan dari masing masing pelarut. Ekstrak propolis dengan pelarut etil asetat memiliki berat yang lebih besar yaitu 34 gram (47,2%) dibandingkan dengan berat ekstraksi n-heksan dan metanol.

Namun besar kecilnya kemampuan antibakteri tidak dipengaruhi oleh berat ringannya hasil dari ekstraksi. Dalam proses ekstraksi kemungkinan terdapat senyawa dari golongan senyawa kimia yang berbeda sesuai dengan kepolaranya²⁴.

Uji Sensitivitas Antibakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*

Uji sensitivitas Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* dilakukan dengan obat *ciprofloxacin* melalui metode difusi agar. Konsentrasi yang digunakan adalah 1000 µg/ml dengan pelarut *Dimetilsulfoksida* (DMSO). Hasil uji sensitifitas terhadap masing-masing bakteri dapat dilihat pada Tabel 2 berikut :

Tabel 2. Hasil Uji sensitifitas bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* dengan obat *ciprofloxacin* konsentrasi 1000 µg/ml

No	Jenis Bakteri	Diameter Hambat (mm)
1	<i>Escherichia coli</i>	24 mm
2	<i>Shigella dysenteriae</i>	23 mm

Pada Tabel 2 dari hasil uji sensitifitas tersebut menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* maupun bakteri *Shigella dysenteriae* masih sensitif terhadap *ciprofloxacin* sehingga dapat digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini.

Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak N-heksan, Etil Asetat, dan Metanol air

Pada proses pengujian aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol air dilakukan dengan metode difusi agar sama dengan metode pada saat dilakukannya uji sensitifitas. Adapun hasil uji aktifitas antibakteri dari masing-masing ekstrak dapat dilihat pada Tabel 3 berikut ini.

Tabel 3. Rerata diameter zona hambat dari ketiga ekstraksi terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*

No	Jenis Ekstrak	Konsentrasi (µg/ml)	Diameter Zona Hambat (mm)	
			<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
1	N-heksan	4000	14,8 ± 0,84	13 ± 1,58
2	Etil Asetat	4000	13,6 ± 1,14	13,4 ± 1,14
3	Metanol air	4000	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00

Dari Tabel 3 dapat dilihat metanol air tidak memiliki diameter hambat untuk kedua bakteri tersebut, ini menegaskan dari hasil uji ekstraksi bertingkat bahwa fraksi yang aktif adalah ekstrak n-heksan dan ekstrak etil asetat.

Tabel 4. Rerata diameter hambat fraksi N-heksan dan etil asetat propolis terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* pada berbagai konsentrasi.

No	Konsentrasi (µg/ml)	Jumlah Ulangan (n)	Rerata ± Standar Deviasi diameter Zona hambat (mm)			
			N-heksan		Etil asetat	
			<i>E. coli</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>E. coli</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
1	4000	5	14,8 ± 0,84	13 ± 1,58	13,6 ± 1,14	13,4 ± 1,14
2	2000	5	13,6 ± 1,14	11,6 ± 1,14	12,4 ± 1,14	12,4 ± 1,14
3	1000	5	13,4 ± 1,14	10,6 ± 1,14	12,4 ± 1,14	12,4 ± 1,14
4	500	5	1,52	10,2 ± 1,30	10,6 ± 1,14	1,14
5	250	5	12,4 ± 0,84	8,4 ± 1,14	8,8 ± 1,30	10,6 ± 1,14
6	125	5	1,14	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	1,14
			11,2 ± 0,84			10,4 ± 1,14
			10,2 ± 1,48			8,6 ± 1,14
			0,0 ± 0,00			0,0 ± 0,00

Konsentrasi fraksi n-heksan terkecil yang masih menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* adalah 250 µg/ml dengan diameter hambat 10,2 ± 1,48 mm dan 8,4 ± 1,14 mm sedangkan konsentrasi fraksi etil asetat yang masih menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* adalah 8,8 ± 1,30 mm dan 8,6 ± 1,14 mm maka kedua konsentrasi tersebut dinyatakan sebagai nilai KHM. Adanya perbedaan diameter hambat yang tidak terlalu jauh berbeda dari kedua fraksi aktif tersebut disebabkan karena kedua bakteri uji merupakan bakteri gram negatif sehingga kerentanannya terhadap suatu senyawa antimikroba yang sama juga tidak jauh berbeda¹⁹.

Selanjutnya untuk mengetahui berapa perbandingan rata-rata Diameter Hambat masing-masing konsentrasi dari fraksi n-heksan dan etil asetat propolis, maka dilakukan uji t-tes terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* dapat dilihat pada Tabel 5 berikut :

Tabel 5. Perbandingan rata-rata Diameter Hambat Fraksi N-heksan dan etil asetat propolis terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*

Konsentras i (µg/ml)	Konsentrasi (µg/ml)	p value			
		N-heksan		Etil asetat	
		<i>E. coli</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. dysenteriae</i>
4000	2000	0,819	1,000	1,000	1,000
	1000	0,030	0,049	1,000	0,004
	500	0,000	0,013	0,003	0,002
	250	0,000	0,000	0,000	0,000
	125	0,000	0,000	0,000	0,000
2000	1000	1,000	1,000	1,000	0,173
	500	0,061	1,000	0,208	0,085
	250	0,002	0,003	0,000	0,000
1000	125	0,000	0,000	0,000	0,000
	500	1,000	1,000	0,208	1,000
	250	0,061	0,094	0,000	0,085
500	125	0,000	0,000	0,000	0,000
	250	1,000	0,330	0,208	0,173
250	125	0,000	0,000	0,000	0,000
	125	0,000	0,000	0,000	0,000

Berdasarkan Tabel 5 dapat disimpulkan bahwa konsentrasi fraksi n-heksan dan etil asetat yang paling efektif terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* adalah konsentrasi 250 µg/ml.

Dikarenakan variansi data homogen maka dilanjutkan analisis dengan menggunakan uji post hoc dilakukan secara *Bonferroni* untuk melihat perbedaan rata-rata diameter hambat pada masing-masing konsentrasi untuk dibandingkan dengan

ciprofloxacin 1 µg/ml dimana dapat dilihat pada Tabel berikut ini

Tabel 6. Perbandingan antara fraksi n-heksan dan etil asetat dengan *ciprofloxacin*

Konsentrasi (µg/ml)	Konsentrasi (µg/ml)	<i>p value</i>			
		N-heksan		Etil asetat	
		<i>E. coli</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. dysenteriae</i>
4000	2000	1,000	1,000	1,000	1,000
	1000	0,086	0,100	1,000	0,014
	500	0,002	0,030	0,011	0,007
	250	0,000	0,000	0,000	0,000
	1 µg/ml	0,000	0,000	0,000	0,000
2000	<i>ciprofloxacin</i>				
	1000	1,000	1,000	1,000	0,341
	500	0,156	1,000	0,446	0,185
	250	0,007	0,009	0,002	0,000
	1 µg/ml	0,000	0,000	0,000	0,000
1000	<i>ciprofloxacin</i>				
	500	1,000	1,000	0,446	1,000
	250	0,156	0,178	0,002	0,185
	1 µg/ml	0,000	0,000	0,000	0,000
	<i>ciprofloxacin</i>				
500	250	1,000	0,534	0,446	0,341
	1 µg/ml	0,000	0,000	0,000	0,000
	<i>ciprofloxacin</i>				
250	1 µg/ml	0,000	0,000	0,000	0,000
	<i>ciprofloxacin</i>				

Berdasarkan Tabel 6 dapat disimpulkan bahwa *ciprofloxacin* lebih efektif bila dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan etil asetat dengan *p value* < α (0,05).

Dengan demikian dapat dikatakan bahwa ini menunjukkan hubungan tersebut berbanding lurus, yaitu semakin besar konsentrasi fraksi n-heksan dan aetil asetat propolis maka semakin besar pula diameter hambat yang dihasilkan. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa memang ada pengaruh antar fraksi aktif dari propolis terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

Uji Kesetaraan Fraksi N-heksan dan Etil Asetat dengan *Ciprofloxacin*

Uji kesetaraan digunakan untuk mengetahui berapa besar konsentrasi fraksi n-heksan dan etil asetat sebanding dengan konsentrasi antibiotik *ciprofloxacin*. Untuk mengetahui kesetaraan fraksi aktif propolis dengan antibiotik *ciprofloxacin* terlebih dahulu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri *ciprofloxacin* dengan konsentrasi 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml, 10 µg/ml dan 1 µg/ml, terhadap

bakteri uji. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 7 berikut ini.

Tabel 7. Kesetaraan fraksi n-heksan dan etil asetat propolis dengan *ciprofloxacin* terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*

Konsentrasi	<i>Ciprofloxacin</i>			
	N-heksan		Etil asetat	
	<i>E. coli</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>E. coli</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
250 µg/ml	4,0 µg/ml	4,6 µg/ml	5,2 µg/ml	4,5 µg/ml

Berdasarkan Tabel 7 bisa dikatakan bahwa fraksi N-heksan dan etil asetat propolis memiliki efektivitas antibakteri lebih rendah dibandingkan dengan antibiotik *ciprofloxacin* terhadap *Escherichia coli* maupun *Shigella dysenteriae*. *Ciprofloxacin* memiliki potensi lebih besar bila dibandingkan dengan fraksi n-heksan propolis, ini disebabkan karena zat antibakteri yang diisolasi dari propolis masih dalam bentuk fraksi walaupun Walaupun demikian ekstrak propolis sudah menunjukkan aktivitas antibakteri yang positif dan efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Fraksi N-heksan dan Etil asetat propolis

Uji kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada fraksi yang aktif dari propolis. Hasil uji KLT dari masing-masing fraksi dapat dilihat pada Tabel 8 berikut:

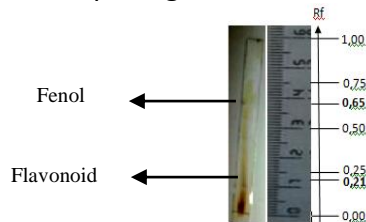
Tabel 8. Hasil Uji KLT Fraksi N-heksan dan etil aseta

Jenis Fraksi	Eluen	Warna	Senyawa Aktif
N-heksan	N-heksan:etil asetat (8:2)	Kuning Kecoklatan Kuning	Flavonoid Fenol
Etil asetat	N-heksan:etil asetat (8:2)	Kuning Kecoklatan Kuning	Flavonoid Fenol

Berdasarkan hasil uji KLT pada fraksi aktif N-heksan dan etil asetat terdapat golongan senyawa fenol dan flavonoid. Hal ini sesuai dengan salah satu hasil penelitian

yang menyatakan bahwa propolis bisa berwarna kuning hingga coklat tua ataupun transparan tergantung kandungan flavonoidnya²⁵.

Hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) dari fraksi N-heksan dan etil asetat dapat dilihat pada gambar berikut ini.

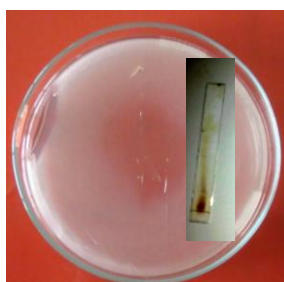


Gambar 1. Hasil uji Kromatografi lapis tipis (KLT) (A).Fraksi n-heksan (B).Fraksi etil asetat

Uji Bioautografi dan Penentuan Golongan Senyawa aktif

Uji bioautografi dilakukan untuk mengetahui nilai Rf senyawa aktif antibakteri dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Penentuan golongan senyawa aktif menggunakan plat silica gel GF₂₅₄ dengan menggunakan perbandingan eluen yang sesuai sebagai fase gerak dan H₂SO₄ untuk penampak bercak, dimana hasilnya dapat dilihat pada Tabel 9 berikut:

hasil uji bioautografi dan penentuan golongan senyawa aktif pada fraksi n-heksan dan etil asetat pada plat silica gel GF₂₅₄ setelah disemprot dengan H₂SO₄ timbul bercak berwarna kuning kecoklatan dan kuning. Bercak ini menunjukkan bahwa di dalam fraksi tersebut terdapat senyawa flavonoid dan fenol. Terbentuknya zona bening pada media uji bioautografi menunjukkan hambatan pertumbuhan bakteri yang merupakan daerah dimana senyawa aktif berada dapat dilihat pada Gambar berikut ini.



Gambar 2: Hasil Uji Bioautografi dari Fraksi N-heksan dan etil asetat

Komponen utama dari propolis kadarnya sekitar 50% terdiri dari flavonoid dan senyawa fenol dan esternya⁹. Sedangkan unsur aktif yang terkandung dalam propolis diantaranya adalah flavonoid dan senyawa fenol²⁹.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil simpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak n-heksan dan etil asetat propolis memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. sedangkan ekstrak metanol air tidak memiliki aktivitas antibakteri.
2. Konsentrasi fraksi n-heksan dan etil asetat terkecil yang masih menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* adalah 250 µg/ml sehingga konsentrasi ini dinyatakan sebagai nilai KHM.
3. Fraksi n-heksan 250 µg/ml setara dengan 4,0 µg/ml dan 4,6 µg/ml *ciprofloxacin* terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* sedangkan fraksi etil asetat 250 µg/ml setara dengan 5,2 µg/ml dan 4,5 µg/ml *ciprofloxacin* terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.
4. Fraksi n-heksan dan etil asetat propolis memiliki aktivitas antibakteri yang lebih rendah jika dibandingkan dengan *ciprofloxacin* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.
5. Golongan senyawa antibakteri yang terdapat dalam fraksi n-heksan dan etil asetat propolis adalah flavonoid dan fenol.

DAFTAR PUSTAKA

1. Adisasmito, W. 2007. Faktor Resiko Diare pada Bayi dan Balita di Indonesia. *Jurnal MAKARA* 11 (1):1-10. (<http://www.jurnal.ui.ac.id>)
2. Bankova, V. 2000. *Determining Quality in Propolis Samples*. (<http://www.apitherapy.org/determiningquality.html>)
3. Brock, JM, Brock, K., John, F. 1996. *Microbiology and Applications*. Prentice Hall Inc. Englewood Cliffs. New Jersey.
4. Challem, J. 1995. *Medical Journal Document Value of Bee Propolis, Honey and Royal Jelly*. http://www.thenutritionreporter.com/bee_stuff.html.
5. Ciesla WP, Guerrant RL. 2003. Infectious Diarrhea. In: Wilson WR, Drew WL, Henry NK, et al editors. *Current Diagnosis and Treatment in Infectious Disease*. New York: Lange Medical Books 68:225.
6. Davis, W.W. And T.R. Stout.1971. *Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay*. *Microbiology* 22:659-665
7. Departemen Kesehatan Provinsi Sumatera Selatan. 2010. Profil Kesehatan Propinsi Sumatera Selatan 2010 : "Distribusi Penderita Diare Semua Umur", Sumsel.
8. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2011. Profil Kesehatan Indonesia 2011 : "Penyakit Menular Berpotensi menimbulkan KLB", Jakarta.
9. Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi Kedua. Terjemahan oleh : Padmawinata dan Soediro. ITB Bandung.
10. Hasan, A E Z. 2006. Potensi Propolis Lebah Madu *Trigona* spp. Sebagai Bahan Antibakteri. Seminar Nasional HKI: Bogor.
11. Hill. R. 2000. *Propolis The Natural Antibiotic*. (www.Arkson.com/resources/propolis.htm)
12. Hegazi, A.G. 1997. *Propolis an Overview*. *J. Immunol*. <http://www.apinetla.com.ar/congreso/c05.pdf>.
13. Holetz, F.B.H., Pessini, G.L., Sanches, N.R., Cortez, D.A.G., Nakamura, C.V., and Filho, B.P.D., 2002, *Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases*. (<http://www.bioline.org.br/request?oc02229>).
14. Hyun Koo, Pedro L. Rosalen, Jaime A. Cury, Yong K. Park, and William H. Bowen. 2002. *Effects of Compounds Found in Propolis on Streptococcus mutans Growth and on Glucosyltransferase Activity*. Center for Oral Biology and Eastman Departement of Dentistry, University of Rochester Medical Center, Rochester, New York. Hal 1-2
15. Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloid*. USU. Medan.
16. Leaven, M., Berghe, F.,Marters, A., Vlietinck,E., Lammens. 1999. *Screening of Hinger Plants for Biological Activity*. *Planta Medica*. New York.

17. Lung E, Acute Diarrheal Disease. In: Friedman SL, McQuaid KR, Grendell JH, editors. *Current Diagnosis and Treatment in Gastroenterology*. 2nd edition. New York: Lange Medical Books, 2003. 131 - 50.
18. Panzani, S.W. 2009. *An Examination of Antibacterial and Antifungal Properties of Constituents described in Traditional Ulster Cures and Remedies. The ulster medicinal society*. 78(1): 13-15.
19. Pelczar, M.J. & E.C.S. Chan. 2005. Dasar-dasar Mikrobiologi. Jilid II. Terjemahan oleh : Hadioetomo, R.S., Tjitrosomo, S.S., Angka, S.L. & Imas, T. UI Press. Jakarta.
20. Poliklinik RSMH. 2009. Laporan Kejadian Diare akut di poli anak umum. Palembang, hal 1-68.
21. Prescott, 2005. *Microbiology. 6nd Edition. Mc. Graw Hill Companies*. Inc. New York. xxi +992 hlm.
22. Prindle, R.F. 1993. *Phenolic Compounds*. In Block S.S. Ed. *Disinfection Sterilization and Preservation*. Philadelphia: Lea and Fibiger.
23. Salatino A, Teixeira ÉW, Negri G, Message D. 2005. *Origin and chemical variation of Brazilian propolis*. *eCAM* 2:33–38.
24. Salni. 2003. Karakterisasi dan Uji Aktivitas Topikal Senyawa Antibakteri dari Daun Karamunting {*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait) Hassk} dan Uji Efektivitas Sediaan Salepnya. Disertasi. ITB Bandung. 153 hlm.
25. Saputra I. 2009. Aktivitas antibakteri mikrokapsulasi propolis *Trigona* spp. Pandeglang setelah terpapar cairan lumen sapi [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
26. Sforcin, J.M, Funari, S.R.C, Novelli, E.L.B. 1995. *Serum biochemical determinations of propolis-treated rats*. *J Venom. Anim. Toxins* Vol. 1
27. Suharto. 2002 . *Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi : Flora Normal serta Hubungan Kuman Dengan Hospes dan Lingkungannya*. Binarupa Aksara, Jakarta, Indonesia, hal 27-32.
28. Tadda A. 2010. *Patofisiologi Gejala Klinik dan Penatalaksanaan Diare*. [terhubung berkala] <http://astagaauliyah.com/2010/06/artikel-kedokteranpatofisiologi-gejala-klinik-dan-penatalaksanaan-diare> (5 Januari 2013).
29. Winingsih, W. 2004. *Kediaman Lebah Sebagai Antibiotik dan Antikanker*. <http://www.Pikiranrakyat.com/cetak/0904/16/cakrawala/6.htm>