

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK PROPOLIS LEBAH *Heterotrigona itama* DARI BEBERAPA LOKASI BUDIDAYA DI KALIMANTAN TIMUR TERHADAP BAKTERI *Propionibacterium acnes*

Sarah Azzara Dikarulin¹, Dyah Ayu Dewi Listyaningrum¹, Bayu Susetya Ananda¹, Tasya Ananda Putri¹,
Rudianto Amirta, Enih Rosamah, Wiwin Suwinarti, Yuliansyah, Irawan Wijaya Kusuma^{1,2}, Enos Tangke
Arung^{1,2*}

¹Laboratorium Kimia Hasil Hutan dan Energi Terbarukan, Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman

²Research Center for Drugs and Cosmetics from Tropical Rainforest Resources, Mulawarman University,
Samarinda, Indonesia

E-Mail: tangkearung@yahoo.com

Received : 13 Juni 2022. Accepted: 1 Agustus 2022.

ABSTRACT

Propolis is an important product for bees that is widely used as an alternative to natural medicine because it contains bioactive compounds that can have a positive effect on the body. As a product produced by bees to cover their nests and prevent predators and bacterial or viral infections from outside, propolis has one of the benefits of being an antibacterial. This study aims to determine the inhibitory power of *Heterotrigona itama* bee propolis extract from 4 cultivation locations (plantations, rice fields, secondary forests, and urban areas) in East Kalimantan against *Propionibacterium acnes* or *P.acnes* bacteria by hole/well diffusion method on NB media with chloramphenicol as a positive control and acetone as a negative control. Propolis was extracted using the maceration method with 96% ethanol solution which was then made in 3 (three) concentrations, namely 500 ppm, 250 ppm, and 125 ppm. The results showed that the phytochemicals in the 4 cultivation locations predominantly contained alkaloids, flavonoids and coumarins. Bacterial test at a concentration of 500 ppm, *H.itama* propolis from plantation and paddy field locations was classified as strong in inhibiting bacterial growth, from secondary forest locations it was classified as moderate, and from urban locations it was classified as low.

Keywords: Propolis, phytochemicals, *Heterotrigona itama*, antibacterial, *P. acnes*

ABSTRAK

Propolis merupakan produk penting bagi lebah yang banyak digunakan sebagai salah satu alternatif pengobatan alami karena mengandung senyawa bioaktif yang dapat memberikan efek positif pada tubuh. Sebagai produk yang dihasilkan lebah untuk menutupi sarangnya dan mencegah predator maupun infeksi bakteri atau virus dari luar, propolis memiliki salah satu manfaat sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak propolis lebah *Heterotrigona itama* yang berasal dari 4 lokasi budidaya (perkebunan, persawahan, hutan sekunder, dan perkotaan) di Kalimantan Timur terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* atau *P.acnes* dengan metode difusi lubang/sumuran pada media nutrient broth (NB) dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan aseton sebagai kontrol negatif. Propolis diekstrak menggunakan metode maserasi dengan larutan etanol 96% yang kemudian dibuat dalam 3 (tiga) konsentrasi yaitu 500ppm, 250 ppm, dan 125 ppm. Hasil penelitian menunjukkan fitokimia dari propolis di 4 lokasi budidaya dominan mengandung alkaloid, flavonoid dan kumarin. Uji bakteri pada konsentrasi 500 ppm, propolis *H.itama* dari lokasi perkebunan dan persawahan tergolong dalam kategori kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri, dari lokasi hutan sekunder tergolong sedang, dan dari lokasi perkotaan tergolong rendah.

Kata kunci: Propolis, fitokimia, *Heterotrigona itama*, antibakteri, *P. acnes*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang luas daratannya sebagian besar terdiri dari hutan. Hutan di Indonesia memiliki luas sebesar 125.797.052 Ha di tahun 2021 (PPID KLHK, 2021). Keberadaan hutan yang cukup luas tersebut tentu mendukung tingkat kekayaan keanekaragaman hayati yang kemudian dapat dimanfaatkan. Selain kayu, hutan juga menghasilkan produk bukan kayu atau Hasil Hutan Bukan Kayu (HHBK). Sesuai dengan

Peraturan Menteri Kehutanan Nomor P.35/Menhut-II/2007, HHBK merupakan hasil hutan hayati baik nabati maupun hewani beserta produk turunan dan budidaya kecuali kayu.

Propolis yang diproduksi oleh lebah termasuk produk HHBK yang sering dimanfaatkan oleh manusia sebagai obat maupun sebagai produk kecantikan. Salah satu lebah yang memproduksi propolis adalah lebah tidak bersengat (*stingless bee*) jenis *Heterotrigona itama*. *Stingless bee* memproduksi propolis lebih banyak dibandingkan produk lain seperti madu atau pollen (Pujirahayu



et al, 2015). Hal tersebut disebabkan propolis digunakan oleh *stingless bee* sebagai bentuk pertahanan, sistem imun eksternal, dan antimikroba/antibakteri. Antibakteri merupakan suatu senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme dimana pada konsentrasi kecil dapat menghambat kehidupan bakteri (Jawetz *et al*, 1996).

Tidak semua mikroorganisme berbahaya, namun ada beberapa jenis yang dapat menimbulkan penyakit apabila masuk ke dalam tubuh. Salah satunya adalah bakteri *Propionibacterium acnes* atau *P.acnes*. Bakteri *P.acnes* termasuk flora normal yang terdapat di beberapa bagian tubuh manusia, namun apabila jumlahnya berlebih bakteri ini dapat menyebabkan tumbuhnya jerawat terutama jika menginfeksi pada bagian kulit (Mollerup *et al*, 2016).

Budidaya lebah *H.itama* oleh masyarakat di Indonesia tersebar luas di beberapa daerah termasuk di Kalimantan Timur. Dengan perbedaan wilayah atau lokasi budidaya, maka produksi dari propolis lebah akan mengalami perbedaan juga baik pada warna, tekstur, maupun kandungan senyawa yang terdapat didalamnya. Hal tersebut tentu berpengaruh pada tingkat keberhasilan kandungan senyawa pada propolis lebah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P.acnes*. Berdasarkan uraian tersebut, dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak propolis lebah *H.itama* dari beberapa lokasi budidaya di Kalimantan Timur terhadap bakteri *P.acnes*.

METODE PENELITIAN

Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel propolis dilakukan di beberapa tempat budidaya, lokasi pertama merupakan areal perkotaan berada di Jl. Alam Segar 3 Kota Samarinda, lokasi kedua merupakan areal hutan berada di Jl. Rimbawan Dalam RT. 08 Kota Samarinda, lokasi ketiga merupakan areal persawahan berada di RT. 03 Buana Jaya Tenggarong Seberang Separi, dan lokasi keempat merupakan areal perkebunan berada di Km 26 Balikpapan. Pengujian sampel dilakukan di Laboratorium Kimia Hasil Hutan dan Energi Terbarukan, Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak propolis dari masing-masing lokasi budidaya, etanol 96%, aquades, agar-agar *plain*, *microbiology glucose*, media NB (*Nutrient Broth*),

aseton, kloramfenikol, dan bakteri *Propionibacterium acnes*.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas *beaker*, spatula, tabung reaksi, timbangan analitik, plastik *wrapping*, *aluminium foil*, kertas saring, kertas label, tabung Erlenmeyer, botol vial, tabung evaporasi, cawan petri, oven, corong kaca, pemanas listrik, mikropipet, *blue and yellow tip*, *rotary vacuum evaporator*, detector UV, kapas, incubator *laminar flow*, serta *autoclave*.

Prosedur Penelitian

Persiapan Sampel

Sampel propolis yang diambil dari masing-masing lokasi budidaya dipisahkan dari *bee pollen* dan madu menggunakan spatula. Kemudian sampel diletakkan di atas cawan petri dan ditimbang menggunakan timbangan analitik. Ekstraksi propolis dilakukan menggunakan metode maserasi dengan cara merendam sampel ke dalam etanol 96% selama 3x24 jam dengan 3 (tiga) kali pergantian dan penyaringan larutan etanol setiap 24 jam sekali. Maserat yang telah terkumpul selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu $\pm 35-40^{\circ}\text{C}$ yang kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu $\pm 39-40^{\circ}\text{C}$ hingga memiliki tekstur yang padat.

Pembuatan Media

Media *Nutrient Broth* (NB) ditimbang sebanyak 2 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi 500ml, ditambahkan 2,5 gram *microbiology glucose*, 5 gram agar-agar *plain*, dan 250 ml aquades. Dipanaskan hingga mendidih menggunakan pemanas listrik kemudian ditutup dengan *aluminium foil*. Media kemudian dimasukkan ke dalam *autoclave*, disterilkan pada suhu 120°C selama 15 menit. Setelah itu dikeluarkan media dari *autoclave* lalu dituang sebanyak 20ml ke dalam masing-masing cawan petri.

Pembuatan Media Inokulum Bakteri *P.acnes* dan Pengujian Antibakteri

Sebanyak 100 μl suspensi bakteri diambil menggunakan kapas lidi yang sudah disterilkan, kemudian dioleskan secara merata pada permukaan media pada masing-masing cawan petri. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode yang dimodifikasi mengacu pada Cappucino dan Sherman (2001). Setelah dioleskan suspensi bakteri, media yang terdapat dalam cawan petri dikeringkan sampai mengeras. Kemudian dibuat 5 (lima) lubang sumuran menggunakan alat pelubang pada media. Kelima lubang tersebut masing-masing diinjeksikan 20 μl larutan aseton sebagai kontrol negative,

Analisis Antibakteri

Dari hasil penelitian yang dilakukan, propolis *H. itama* memiliki aktivitas antibakteri, yang terlihat dari adanya penghambatan pertumbuhan bakteri *P. acnes*. Nilai

pengukuran zona hambat yang terbentuk pada uji antibakteri propolis terhadap *P. acnes* bervariasi pada masing-masing konsentrasi. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 4 di bawah ini.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Zona Hambat Propolis *H.itama* terhadap Bakteri *P.acnes*

No	Sampel	Konsentrasi (ppm)	Rataan (mm)	% Hambatan Relatif
1	Perkebunan	500	13	42,55
		250	10,89	35,64
		125	7,89	25,82
		Kloramfenikol (+)	30,56	100
2	Persawahan	500	11,11	41,15
		250	10,33	38,27
		125	4,67	17,28
		Kloramfenikol (+)	27	-
3	Hutan Sekunder	500	6,89	33,51
		250	5,22	25,41
		125	0,00	0,00
		Kloramfenikol (+)	20,56	100
4	Perkotaan	500	3,78	11,89
		250	3,00	9,44
		125	2,11	6,64
		Kloramfenikol (+)	31,78	100

Pada Tabel 4 diatas pengujian ini menggunakan 3 konsentrasi untuk mengetahui keefektifan yang dapat dilakukan sampel ekstrak propolis dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P.acnes* pada sejumlah media yang telah disiapkan. Konsentrasi tersebut dibagi menjadi 500 ppm, 250 ppm dan 125 ppm. Rata-rata zona hambat bakteri *P.acnes* yang terbentuk dari pemberian ekstrak propolis paling besar didapatkan pada konsentrasi 500 ppm. Semakin kecil tingkatan konsentrasi maka semakin kecil juga rata-rata penghambatannya. Nilai rata-rata zona hambat terbesar ditemukan pada propolis yang berasal dari lokasi perkebunan yaitu 13 mm dengan persentase penghambatan sebesar 42,55%, sedangkan rata-rata penghambatan terendah terdapat pada propolis yang berasal dari wilayah perkotaan yaitu 3,78 mm dengan persentase penghambatan sebesar 11,89%. Pengambilan sampel propolis lebah *H. itama* pada lokasi yang berbeda-beda tentu akan memengaruhi produksi propolis dan senyawa yang terkandung di dalamnya. Hal tersebut yang menyebabkan pada pengujian antibakteri ini, nilai penghambatan dari ekstrak propolis tiap lokasi juga mengalami perbedaan angka yang bervariasi. Hal ini dapat terjadi karena penghambatan yang lebih tinggi pada propolis yang berasal dari perkebunan dan persawahan (Tabel 2) karena adanya kandungan tanin pada kedua propolis ini yang tidak dimiliki oleh propolis di lokasi hutan sekunder dan perkotaan. Lee et al., (2017) menjelaskan bahwa beberapa senyawa tanin dari tanaman *Punica*

granatum (pomegranate) seperti punicalagin, punicalin, strictinin A, and granatin B menghambat pertumbuhan *P. acnes*.

Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar dengan nilai >20 mm dibandingkan dengan masing-masing ekstrak. Hal tersebut dikarenakan kloramfenikol merupakan zat antibakteri murni dengan sifat bakterostatik sehingga dapat secara kuat menghambat pertumbuhan bakteri aerob maupun anaerob. Kloramfenikol bekerja dengan cara menghambat sintesis protein mikroba (Katzung, 2010). Menurut Davis dan Stout (1971), ketentuan kekuatan antibiotik antibakteri tergolong sangat kuat untuk zona hambat > 20 mm, kuat untuk zona hambat 10-20 mm, sedang pada zona hambat 5-10 mm, serta lemah untuk zona hambat < 5 mm.

Berdasarkan hasil pengujian pada bagian sebelumnya disimpulkan bahwa propolis yang berasal dari daerah peternakan lebah diareal perkebunan memiliki aktivitas anti *P. acnes* yang lebih baik dari areal dengan memiliki kandungan zat aktif/fitokimia yaitu alkaloid, flavonoid, tanin dan kumarin. Hal ini menjadi potensi pengembangan dimasa mendatang untuk pemanfaatan propolis dari areal perkebunan sebagai bahan anti bakteri khususnya *P. acnes*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini sebagian didanai oleh Hibah Penelitian Dasar dengan nomor kontrak 198/UN17.41/KL/2019 dan Hibah Penelitian

Dosen Fakultas Kehutanan Universitas
Mulawarman (22/HK/2022).

International Journal of Pharmacy and
Pharmaceutical Sciences, p: 419-422

DAFTAR PUSTAKA

- Avila, S., Beux, M.R., Ribani, R.H., Zambiasi, R.C. 2018. Stingless bee honey : Quality parameters, bioactive compounds, health promotion properties and modification detection strategies. Trends in Food Science and Technology, 81(11):37-50
- Cappucino, J.G. and Sherman, N. 2001. Microbiology: A Laboratory Manual. 2nd Edition. The Benjamin Cummings Publishing Company. Rockland Community College. State University of New York.
- Davis, W.W., dan Stout, T.R., 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. Applied Microbiology, 22 (1): 659-665.
- Jawetz, E., J. Melnick dan E. Adelberg. 1996. Mikrobiologi Kedokteran (Diterjemahkan oleh Edi N., R.F. Maulany). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jones B, Aryani RD, Setyono. 2003. Ekstraksi Karotenoid dari Minyak Kelapa Sawit Mentah (CPO). Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia 2003. Yogyakarta.
- Katzung, Bertram G. (2010). Farmakologi Dasar dan Klinik (terjemahan), Ed.10, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Kusmiyati dan Agustini, N. W. S. 2007. Uji Aktivitas Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*, Biodiversitas, 8, 1412-03.
- Lee, C.J, Chen, L.G., Liang, W.L., Wang, C.C. 2017. Multiple Activities of *Punica granatum* Linne against *Acne Vulgaris*. International Journal of Molecular Sciences, 18(1):141, doi: 10.3390/ijms18010141.
- Mollerup, S., Nielsen, J. F., Vinner, L. & Hansen, T. A. 2016. Propionibacterium acnes: Disease-Causing Agent or Common Contaminant Detection in Diverse Patient Samples by Next Generation Sequencing. Journal of Clinical Microbiology, 54(4), p. 980.
- Pejabat Pengelola Informasi dan Dokumentasi (PPID) KLHK. 2021. <http://ppid.menlhk.go.id/berita/siaran-pers/6330/capaian-tora-dan-perhutanan-sosial-di-tahun-2021>. Diakses pada 10 Mei 2022.
- Pujirahayu, N., Ritonga, H., Agustina, S. and Uslinawaty, Z., 2015. Antibacterial activity of oil extract of *Trigona propolis*.