PENGARUH JENIS CAIRAN PENGEKSTRAKSI TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI PROPOLIS

PRISCA DEVIANI PAKAN N111 06 009



PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASSAR 2010

PENGARUH JENIS CAIRAN PENGEKSTRAKSI TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI PROPOLIS

SKRIPSI Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

PRISCA DEVIANI PAKAN N111 06 009

PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASSAR 2010

PERSETUJUAN

PENGARUH JENIS CAIRAN PENGEKSTRAKSI TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI PROPOLIS

OLEH

PRISCA DEVIANI PAKAN N111 06 009

Disetujui Oleh:

Pambimbing Utama

Drs. H. Burhanuddin Taebe, M.Si, Apt

NIP, 19480727 197903 1 001

Pembimbing Pertama

Pembimbing Kedua

Prof. Dr. H. M. Natsir Djide, MS, Apt.

NIP. 19500817 197903 1 003

Dra. Hj. Naimah Ramli, Apt

NIP. 130 808 594

PENGESAHAN

PENGARUH JENIS CAIRAN PENGEKSTRAKSI TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI PROPOLIS

OLEH

PRISCA DEVIANI PAKAN N111 06 009

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Pada Tanggal 09 Desember 2010

Panitia Penguji Skripsi:

1. Ketua

: Dr. Hj. Asnah Marzuki, M.Si, Apt

2. Sekretaris

: Dra. Rosany Tayeb, M.Si, Apt

3. Anggota

: Dra. Jeany Wunas, MS, Apt

4. Anggota (Ex Officio)

: Drs. H. Burhanuddin Taebe, M.Si, Apt

Anggota (Ex Officio)

: Prof. Dr. H. M. Natsir Djide, MS, Apt

Anggota (Ex Officio)

: Dra. Hj. Naimah Ramli, Apt

Mengetahui:

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

Prof. Dr. Ety Wahyudin, DEA, Apt

NIP. 19560114 198601 2 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka

Apabila kemudian terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, 23 - 12-2010

Penyusun,

Prisca Deviani Pakan

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan hikmat dan karuniaNya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana pada jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Tanpa bantuan dari berbagai pihak skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik, maka perkenankan penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

- Bapak Drs. H. Burhanuddin, M.Si., Apt. sebagai pembimbing utama, Bapak Prof. Dr. H. M. Natsir Djide, MS, Apt sebagai pembimbing pertama dan ibu Dra. Hj. Naimah Ramli, Apt. sebagai pembimbing kedua yang telah banyak meluangkan waktu dan pikirannya untuk memberikan bimbingan, saran dan dukungan yang sangat membantu selama proses pelaksanaan penelitian dan penyelesaian skripsi ini.
- Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Pembantu Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin serta Penasehat Akademik.
- Staf pegawai pada Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu dalam penyelesaian studi penulis.
- Kedua orang tuaku yaitu Prof. Dr. Ir. Semuel Pakan, MS dan Ir. Lince Mukkun, MS, PhD serta saudaraku Adrian Pakan, S.T dan Adriani

Pakan, S.Ked yang telah memberikan dukungan dan dorongan dengan penuh kasih dalam meraih cita-cita.

- Teman-teman seperjuangan : Batari Tenri, Mega Purnamasari, Natalia Ada', Sherling Lisangan, Stefani Pumpun, Novianty Yonathan, Maria Lengu, Febriana Valentini, Ikhsan Sidiq, S.Si, Apt. dan sahabatsahabat lainnya yang tidak dapat disebutkan satu persatu.
- Kak Haslia dan Kak Dewi Primayanti Liala yang telah membantu kelancaran penelitian di Laboratorium Mikrobiologi dengan penuh kesabaran dari awal hingga akhir.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini disusun dengan segala keterbatasan dan kekurangan. Skripsi ini penulis persembahkan kepada almamater Universitas Hasanuddin tempat penulis menuntut ilmu pengetahuan dan wawasan kemahasiswaan. Semoga dapat bermanfaat bagi dunia pendidikan terutama dalam bidang kefarmasian.

Akhirnya mohon maaf yang sebesar-besarnya kepada semua pihak atas segala kesalahan dan kekeliruan yang pernah penulis lakukan selama mengikuti pendidikan. Kiranya Allah Yang Maha Pengasih senantiasa melimpahkan berkat dan anugerahNya kepada semua pihak yang telah mendidik, mendorong serta membantu penulis.

Makassar, 2010

Penulis

ABSTRACT

A research in the effects of different elluents on the antibacterial activity of propolis using bacteria *Staphylococcus aureus* has been conducted. The aim of this research is to acknowledge the effects of different elluents on the antibacterial activity of propolis. Propolis which had been extracted with hexan, ethyl acetat, aceton, buthanol, ethanol 96%, ethanol 70%, methanol and water. The exctraction method used was kinetic maseration using magnetic stirrer. The antibacterial activity were tested on bacteria *Staphylococcus aureus* by disc diffusion method using Mueller Hinton Agar (MHA). The result showed that ethanol 96% extract, ethanol 70% extract, methanol extract and water extract have the high antibacterial activities with each diameters 11,710 mm; 10,055 mm; 9,749 mm; 10,395 mm.

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh jenis cairan pengekstraksi terhadap aktivitas antibakteri propolis menggunakan bakteri uji *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis cairan pengekstraksi terhadap aktivitas antibakteri ekstrak propolis. Propolis terlebih dahulu diekstraksi dengan beberapa cairan penyari yaitu heksan, etil asetat, aseton, butanol, etanol 96%, etanol 70%, metanol dan air. Propolis diekstraksi menggunakan metode maserasi kinetik dengan magnetik stirer kemudian di rotavapor hingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya di uji daya hambatnya dengan metode difusi agar menggunakan bakteri uji *Staphylococcus aureus* menggunakan medium Mueller Hinton Agar (MHA). Hasil penelitian yang diperoleh yaitu ekstrak etanol 96%, etanol 70%, ekstrak metanol serta ekstrak air propolis yang memberikan penghambatan yang besar dengan diameter masingmasing 11,710 mm; 10,055 mm; 9,749 mm; 10,395 mm.

Daftar Isi

LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	
LEMBAR PENGESAHAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Uraian Bahan Alam	4
II.1.1 Uraian Propolis	4
II.1.2 Morfologi Propolis	4
II.1.3 Kegunaan Propolis	4
II.1.4 Kandungan Kimia	5
II.2 Uraian Mikroba Uji	5
II.2.1Klasifikasi Mikroba Uji	5
II.2.2 Sifat Mikroba Uji	5
II 3 Metode Penyarian	6

II.3.1 Uraian Ekstraksi	6
II.4 Antimikroba	8
II.5 Pembagian Medium	14
II.6 Pengujian Secara Mikrobilogis	16
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	19
III.1 Alat dan Bahan	19
III.2 Metode Kerja	19
III.2.1 Sterilisasi Alat	19
III.2.2 Penyiapan Sampel Penelitian	20
III.2.3 Ekstraksi sampel	20
III.3. Pengujian Aktivitas Antibakteri	21
III.3.1 Pembuatan Medium	21
III.3.2 Penyiapan Mikrobiologi	22
III.3.2.1 Peremajaan Mikroba Uji	22
III.3.3. Uji Aktivitas Antibakteri	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	24
IV.1 Hasil Penelitian	24
IV.2 Pembahasan	26
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	29
V.1 Kesimpulan	29
V.2. Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIDAN	32

DAFTAR TABEL

Ta	bel Halaman
1.	Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambatan (mm) ekstrak propolis terhadap Staphylococcus aureus24
2.	Hasil pengukuran diameter zona hambatan (mm) ekstrak propolis terhadap Staphylococcus aureus Menggunakan Metode Rancangan Acak Kelompok
3.	Analisa Varians Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambatan (mm) ekstrak propolis terhadap Staphylococcus aureus36

DAFTAR GAMBAR

Gambar						Halaman	
1.	Foto	diameter	daerah	hambatan	ekstrak	propolis	terhadap
	Staph	ylococcus a	ureus set	elah di inkub	asi 1 x 24	jam	25
2.	Foto F	Propolis		***************************************		***************************************	38

DAFTAR LAMPIRAN

La	ampiran	halaman
1.	Skema Kerja	32
2.	Perhitungan Statistik Diameter Daerah Hambatan (mm)	
	ekstrak propolis terhadap Staphylococcus aureus	34
3.	Foto Propolis	38

BABI

PENDAHULUAN

Propolis adalah sejenis resin yang bentuknya seperti lem yang dibuat oleh lebah dengan cara mengumpulkan resin-resin (getah tanaman) dari berbagai macam tumbuhan kemudian bercampur dengan berbagai enzim yang ada pada lebah sehingga dihasilkan resin yang berbeda dari resin asalnya.Para lebah mengumpulkan komponen-komponen propolis dari berbagai jenis bunga dan dedaunan muda yang dicampur dengan air liur lebah dan lilin yang dibuat lebah saat membuat sarang. Sebagai hasilnya, campuran resin, lilin, minyak esensial, polen, berbagai mineral, asam amino, bioflavonoid menjadi antibakteri alami bebas racun yang efektif melawan segala jenis bakteri, virus dan jamur (1, 2, 3).

Lebah memanfaatkan propolis sebagai zat yang dalam jumlah kecil dicampurkan dengan lilin untuk membangun sarang lebah, sehingga sarangnya menjadi steril; keseluruhan sarang lebah terbungkus di dalam propolis untuk perlindungan dan penyimpanan; ruangan sel bagian dalam dengan cermat dipoles propolis sebelum diisi dengan madu, pollen dan anakan sehingga larva-larvanya akan terlindungi dari penyakit sejak mereka ditetaskan hingga telur-telur itu menetas (4).

Propolis sudah digunakan dalam pengobatan tradisional selama berabad-abad, memiliki khasiat sebagai; antimikroba, antioksidatif, antiulcer dan antitumor serta sebagai penyembuh multi-purposes diantaranya sebagai anti-inflamasi dan zat hipontensif, stimulan sistem imunitas, zat bakterisida dan bakteriostatik (3, 5, 6). Berdasarkan hal tersebut maka akhir-akhir ini propolis memperoleh perhatian besar sebagai bahan yang sangat potensial dapat digunakan untuk dunia kesehatan dan kosmetika. Penggunaan propolis telah meningkatkan kebutuhan propolis untuk kepentingan farmasi dan menyebabkannya menarik untuk dijadikan subyek penelitian.

Komposisi propolis sendiri sangat dipengaruhi oleh jenis dan umur tumbuhan, iklim dan waktu dimana propolis tersebut diperoleh. Namun secara umum propolis mengandung resin, asam lemak, minyak esensial, protein serta mineral. Pemanfaatan bahan alam yang digunakan sebagai obat kurang menimbulkan efek samping yang merugikan dibandingkan obat yang terbuat dari bahan sintesis (1, 2, 3).

Zat yang bersifat sebagai antimikobakterial pada propolis pertama kali ditemukan pada tahun 1984 ketika ekstrak yang dicampur air dingin efektif melawan *Bacillus tuberculosis* sampai pada akhirnya para peneliti melaporkan bahwa larutan propolis dalam alkohol 70% bisa berfungsi sebagai fungisida, diwaktu yang sama sejumlah propolis digunakan dalam sebuah penelitian ilmiah pada 39 jenis bakteri dan berbagai jenis jamur dan hasilnya propolis mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan 24 jenis bakteri dan 20 jenis jamur (4).

Propolis mempunyai aktivitas antibakteri yang tinggi terhadap beberapa bakteri sedangkan aktivitas antibakteri ditentukan oleh senyawa aktif yang terdapat dalam sampel tersebut. Senyawa aktif tersebut memiliki aktivitas sesuai kelarutan pada setiap pelarut tertentu sehingga perlu dicari jenis penyari yang benar untuk menarik senyawa aktif tersebut dan memberikan aktivitas antibakteri yang tinggi.

Berdasarkan hal tersebut, maka telah dilakukan penelitian pengaruh jenis cairan pengekstraksi terhadap aktivitas antibakteri propolis dengan maksud mengetahui cara mengekstraksi propolis dan pengujian aktivitas antibakterinya. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui jenis cairan pengekstraksi yang paling baik untuk propolis dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Bahan Alam

II.1.1 Propolis (1,4)

Propolis merupakan substansi resin yang berasal dari kulit kayu atau pucuk-pucuk berbagai jenis tanaman yang dikumpulkan oleh lebah yang kemudian dicampur dengan air liur lebah itu sendiri dan lilin.

Lebah memanfaatkan propolis sebagai zat yang dalam jumlah kecil untuk membangun sarang lebah serta mempertahankannya, sehingga sarangnya menjadi steril,.Keseluruhan sarang lebah terbungkus di dalam propolis untuk perlindungan dan penyimpanan; ruangan sel bagian dalam dipoles propolis sebelum diisi dengan madu, pollen dan anakan sehingga larva-larvanya akan terlindungi dari penyakit.

II.1.2 Morfologi (3, 9)

Setiap jenis tumbuhan menghasilkan propolis dengan warna yang berbeda, sehingga warna propolis bervariasi mulai dari coklat muda, coklat tua, kuning kemerahan, hijau tua hingga coklat hitam bahkan hitam pekat. Secara fisik propolis bersifat liat, mengkilat, bergetah dan sangat pekat.

II.1.3 Kegunaan (1, 3, 7)

Propolis banyak digunakan sebagai antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, dan kosmetik.

II.1.4 Kandungan Kimia (3, 4, 8)

Kandungan kimia yang terdapat dalam propolis yaitu resin, lilin dan asam lemak, minyak essensial, pollen, mineral, asam amino serta bioflavonoid.

II.2 Uraian Mikroba Uji

II.2.1 Klasifikasi (10, 11, 12)

Divisi : Procaryotae

Kelas : Scotobacteria

Bangsa : Bacteria

Suku : Micrococcaceae

Marga : Staphylococcus

Jenis : Staphylococcus aureus

II.2.2 Sifat dan Morfologi (10, 11, 12)

Sel berbentuk bola, terdapat tunggal dan berpasangan secara khas, membelah diri pada satu bidang sehingga bergerombol tidak beraturan dan bersifat non motil. Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif. Staphylococcus patogen sering dapat menghemolisis sel darah dan mengkoagulasi plasma.

Staphylococcus aureus memiliki diameter 0,8-1µ, terdapat pada rongga hidung, kulit, tenggorokan, dan saluran pencernaan manusia. Keracunan oleh Staphylococcus aureus diakibatkan oleh enterotoksin tahan panas yang dihasilkan oleh bakteri tersebut.

II.3 Metode Penyarian (13)

II.3.1 Uraian Ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian adalah kegiatan penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Faktor yang mempengaruhi kecepatan penyarian adalah kecepatan difusi zat yang terlarut melalui lapisan-lapisan batas antara cairan penyari dengan bahan yang mengandung zat tersebut. Secara umum metode ekstraksi dapat dibedakan menjadi infundasi, maserasi, perkolasi dan destilasi.

II.3.2 Uraian Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana, yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel, maka larutan yang terletak di dalam akan terdesak keluar. Peristiwa tersebut berulang terus sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel.

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari dan tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari. Maserasi dapat dilakukan dengan modifikasi, misalnya:

a. Digesti

Digesti adalah cara maserasi yang menggunakan pemanasanlemah, yaitu pada suhu 40-50°C. cara maserasi ini hanya digunakan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan.

Dengan pemanasan akan diperoleh keuntungan antara lain :

- Kekentalan pelarut berkurang, yang dapat mengakibatkan berkurangnya lapisan-lapisan batas.
- Daya malarut cairan penyari akan meningkat, sehingga pemanasan tersebut mempunyai pengaruh yang sama dengan pengadukan.
- Umumnya kelarutan zat aktif akan meningkat bila suhu dinaikkan.
 Jika cairan penyari mudah menguap pada suhu yang digunakan, maka perlu dilengkapi dengan pendingin balik, sehingga cairan penyari yang menguap akan kembali ke dalam bejana.

b. Maserasi dengan menggunakan mesin pengaduk

Penggunaan mesin pengaduk yang berputar terus-menerus, waktu proses maserasi dapat dipersingkat menjadi 6-24 jam.

c. Remaserasi

Cairan penyari dibagi dua.Seluruh serbuk simplisia dimaserasi dengan cairan penyari pertama, setelah diendaptuangkan dan diperas, ampas dimaserasi lagi dengan cairan penyari yang kedua.

d. Maserasi melingkar

Maserasi dapat diperbaiki dengan mengusahakan agar cairan penyari selalu bergerak dan menyebar. Dengan cara ini penyari selalu mangalir kembali secara berkesinambungan malalui serbuk simplisia dan melarutkan zat aktif.

Keuntungan cara ini adalah aliran cairan penyari mengurangi lapisan batas, cairan penyari akan didistribusi secara seragam, sehingga akan memperkecil pemekatan dan waktu yang diperlukan lebih pendek.

e. Maserasi melingkar bertingkat

Pada maserasi melingkar penyarian tidak dapat dilaksanakan secara sempurna, karena pemindahan massa akan berhenti bila keseimbangan telah terjadi. Masalah ini dapt diatasi dengan maserasi melingkar bertingkat.

Pada penyarian dengan maserasi melingkar bertingkat diperoleh serbuk simplisia akan mengalami penyarian beberapa kali, sesuai dengan jumlah bejana penampung. Serbuk simplisia sebelum dikeluarkan dari bajana penyari, dilakukan penyarian dengan cairan penyari baru. Dengan ini diharapkan agar memberikan hasil penyarian yang maksimal. Hasil penyarian sebelum diuapkan digunakan untuk menyari serbuk simplisia yang baru, sehingga memberikan sari dengan kepekatan berulang-ulang akan mendapatkan hasil yang lebih baik daripada yang dilakukan sekali dengan jumlah pelarut yang sama.

II.4 Antimikroba (14, 15)

Antimikroba adalah salah satu zat atau senyawa yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Beberapa senyawa atau kelompok senyawa yang tergolong antimikroba adalah sebagai berikut:

Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa atau kelompok senyawa yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri. Antibakteri dapat digolongkan dalam :

- a. Bakterisid adalah suatu senyawa atau kelompok senyawa yang pada dosis biasa dapat berkhasiat mematikan bakteri.
- b. Bakteriostatik adalah suatu senyawa atau kelompok senyawa yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan atau perbanyakan bakteri pada dosis biasa. Pertumbuhan atau perbanyakan dari bakteri tersebut akan kembali berlangsung jika efek zat atau senyawa tersebut sudah hilang.

2. Antifungi

Antifungi adalah suatu zat atau senyawa yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan dari fungi. Antifungi dapat digolongkan dalam:

- Fungisid adalah senyawa yang dapat mematikan fungi.
- b. Fungistatik adalah suatu senyawa yang pada dosis biasa dapat menghambat pertumbuhan atau perbanyakan fungi. Pertumbuhan atau perbanyakan dari fungi tersebut akan kembali berlangsung jika efek zat atau senyawa tersebut sudah hilang.

3. Antivirus

Antivirus adalah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan dan perbanyakan virus.

II.4.1 Mekanisme kerja antimikroba

a. Penghambatan metabolisme sel mikroba

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya.Berbeda dengan mamalia yang mendapatkan asam folat dari luar, kuman patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoate (PABA) untuk kehidupan hidupnya. Apabila suatu zat atimikroba menang bersaing terhadap PABA dalam pembentukan asam folat yang nonfungsional, akibatnya kehidupan mikroba akan terganggu. Contoh: Sulfonamida, trimetropin dan asam p-amino salisilat.

b. Penghambatan sintesis dinding sel mikroba

Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptida yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Antimikroba ini menghambat reaksi dalam proses sintesis dinding sel, sehingga terjadi kerusakan dinding sel yang menyebabkan terjadinya lisis. Contoh: Penisilin, Sefalosporin, Basitrasin, Vankomisin dan Sikloresin.

c. Penghambatan keutuhan membran sel mikroba

Antimikroba yang dapat mempengaruhi permeabilitas selektif dan merusak membran sel mikroba, sehingga kerusakan membran sel dapat menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain.

d. Penghambatan sintesis protein sel mikroba

Untuk kehidupannya, sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein.Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri dari dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30 S dan 50 S. untuk berfungsi pada sintesis protein komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70 S. penghambatan zat antimikroba dapat terjadi dengan beberapa cara, antara lain :

- Zat antimikroba berikatan dengan 30 S dan menyebabkan kode pada mRNA salah baca oleh tRNA pada waktu sintesis protein, akibatnya akan terbentuk protein abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba. Contoh: Streptomisin dan tetrasiklin.
- Zat antimikroba berikatan dengan ribosom 50 S dan menghambat translokasi kompleks tRNA peptide dari lokasi asam amino ke lokasi peptida, tidak dapat menerima kompleks tRNA asam amino yang baru.
 Contoh: Eritromisin dan Kloramfenikol.
- e. Penghambatan sintesis asam nukleat sel mikroba

243

80

ting

250

Zat antimikroba bekerja dengan cara berikatan dengan enzim polimerase-tRNA (pada sub unit) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Contoh: Rifampisin.

II.4.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroba (12)

Perubahan yang terjadi pada lingkungan turut mempengaruhi perubahan organisme, baik secara morfologis maupun sifat-sifat fisiologisnya. Melalui pengetahuan mengenai berbagai faktor fisik yang mempengaruhi kelangsungan hidup dan pertumbuhan mikroba, maka kita dapat memacu, menekan atau bahkan mematikan aktivitas mikroba secara tepat.

Pengaruh Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang paling berperan mempengaruhi pertumbuhan dan kelangsungan hidup suatu organisme. Suhu mempengaruhi organisme dalam dua cara yang berbeda. Pada suhu tinggi, reaksi kimiawi dan enzimatis dalam sel berlangsung lebih cepat sehingga pertumbuhan meningkat lebih cepat pula. Akan tetapi, diatas suhu tertentu, protein, asam nukleat, dan komponen-komponen sel lainnya mengalami kerusakan permanen. Selanjutnya bila terjadi kenaikan suhu pada kisaran tertentu, pertumbuhan dan fungsi metabolit meningkat sampai titik tertinggi yang memungkinkan reaksi tidak berjalan sama sekali. Di atas suhu tersebut, fungsi sel jatuh drastis sampai titik nol.

Berdasarkan hal di atas, maka suhu yang berkaitan dengan pertumbuhan mikroorganisme digolongkan menjadi tiga, yaitu:

- Suhu minimum yaitu suhu yang apabila berada dibawahnya maka pertumbuhan terhenti.
- Suhu optimum yaitu suhu dimana pertumbuhan berlangsung paling cepat dan optimum. (disebut juga suhu inkubasi)
- Suhu maksimum yaitu suhu yang apabila berada di atasnya maka pertumbuhan tidak terhenti.

Berdasarkan ketahanan panas, mikroba dikelompokkan menjadi tiga, yaitu:

- a. Peka terhadap panas, semua sel rusak apabila dipanaskan pada suhu 60°C selama 10-20 menit.
- Tahan terhadap panas, apabila dibutuhkan suhu 100°C selama 10 menit untuk mematikan sel.
- c. Thermodurik, dimana dibutuhkan suhu lebih dari 60°C selama 10-20 menit tapi kurang dari 100°C selama 10 menit untuk mematikan sel.

Pengaruh pH

Masing-masing mikroba memiliki ketahanan yang berbeda-beda terhadap pengaruh pH.Fungsi umumnya tumbuh optimal pada pH rendah (suasana asam) sedangkan bakteri lebih menyukai suasana netral.Beberapa enzim, system transport electron dan system transport nutrient yang berada di membrane sel sangat sensitive (peka) terhadap konsentrasi ion hydrogen (H⁺).Hal ini dapat mempengaruhi struktur tiga dimensi protein pada umumnya, termasuk enzim-enzim pertumbuhan.

3. Pengaruh Oksigen

Mikroba dapat dibedakan atas 3 kelompok berdasarkan kebutuhannya akan oksigen, yaitu mikroba yang bersifat aerobic, anaerobic, dan anaerobic fakultatif. Kapang dan khamir pada umumnya bersifat aerobic sedangkan bakteri pada umumnya bersifat aerobik dan anaerobik.

Pengaruh Konsentrasi Larutan

Umumnya mikroba hidup di lingkungan yang memungkinkan nutrientnutrien mudah terlarut. Konsentrasi bahan-bahan terlarut sangat
berpengaruh terhadap jalannya air dan nutrient memasuki sel yang
dapat mempengaruhi pertumbuhan dan reproduksi sel. Sel-sel yang
berada dalam lingkungan hipertonis memiliki kecenderungan
kehilangan air karena konsentrasi larutan di luar sel lebih besar
disbanding di dalam sel. Dalam kondisi seperti ini, umumnya bakteri
tidak mampu bereproduksi karena tidak cukup air seluler untuk
mendukung reproduksi tersebut. Akan tetapi pada lingkungan yang
hipotonis dan isotonis mikroba mampu mencukupi kebutuhan air
selulernya.

5. Pengaruh Konsentrasi Substrat (Nutrient) Terhadap Pertumbuhan Konsentrasi substrat dalam suatu medium dapat mempengaruhi laju pertumbuhan populasi mikroba dan perolehan sel total (total cell yield) dari suatu kultur mikroba. Pada konsentrasi substrat yang amat minim, maka laju pertumbuhan mikroba secara proporsional akan menurun.

II.5 Medium (16)

II.5.1 Pembagian Medium

- a) Menurut bentuknya media dapat dibedakan atas
- Media padat:

Kalau ke dalam media ditambahkan antara 12-15 g tepung agar-agar per 1000 mL media. Jumlah tepung agar-agar yang ditambahkan tergantung kepada jenis atau kelompok mikroba yang ditanamkan.

Medium cair.

Kalau ke dalam media tidak ditambahkan zat pemadat, biasanya media cair dipergunakan untuk pembiakan mikroalgae tetapi juga mikroba lain, terutama bakteri dan ragi.

3. Media semi-padat atau semi-cair.

Kalau penambahan zat pemadat hanya 50% atau kurang dari yang seharusnya. Ini umumnya diperlukan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup anaerobik atau fakultatif.

- b) Berdasarkan kepada sifat-sifatnya, media dibedakan menjadi
- 1.Media umum, kalau media tersebut dapat dipergunakan untuk pertumbuhan dan perkembang-biakan satu atau lebih kelompok mikroba secara umum, seperti Agar Kaldu Nutrisi untuk bakteri, Agar Kentang Dekstrosa untuk jamur, dan sebagainya.
- Media Pengaya, kalau media tersebut dapat dipergunakan dengan maksud "memberikan kesempatan" terhadap suatu jenis/kelompok mikroba untuk tumbuh dan berkembang lebih cepat dari jenis/kelompok mikroba lainnya yang sama-sama berada dalam satu bahan.

- 3. Media selektif, adalah media yang hanya dapat ditumbuhi oleh satu atau lebih jenis mikroba tertentu tetapi akan menghambat atau mematikan untuk jenis-jenis lainnya. Ini misalnya media SS (Salmonella-Shigella) agar untuk bakteri Salmonella dan Shigella, atau media WB (Wismuth & Blair) agaruntuk kelompok yang sama.
- Media diferensial, yaitu media yang dipergunakan untuk penumbuhan mikroba tertentu serta penentuan sifat-sifatnya.
- Media penguji, yaitu media yang dipergunakan untuk pengujian senyawa atau benda tertentu dengan bantuan mikroba.
- Media perhitungan, yaitu media yang dipergunakan untuk menghitung jumlah mikroba pada suatu bahan. Media ini dapat berbentuk media umum, media selektif ataupun media diferensial dan penguji.

II.6 Pengujian secara mikrobiologi (9, 17)

Pengujian aktivitas mikrobiologi seperti bakteri dan antimikroba lainnya dapat dilakukan secara kimia dan biologis. Pada pengujian secara biologis dikenal dua cara yaitu pengenceran dan difusi. Walaupun cara ini umumnya digunakan untuk pengujian aktifitas antibiotik, namun sebenarnya juga bisa digunakan untuk bahan-bahan lain atau senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas menghambat atau membunuh mikroba.

a. Cara pengenceran

Pada cara ini digunakan sejumlah bahan antimikroba dengan tingkat konsentrasi yang berbeda sesuai dengan yang ditetapkan. Cara ini menggunakan sejumlah urutan tabung yang diisi media kaldu cair dan sejumlah bahan antimikroba dalam konsentrasi yang berbeda-beda, lalu ditanami dengan bakteri uji.Potensi antimikroba dapat diketahui dengan melihat kekeruhan yang terjadi akibat pertumbuhan bakteri uji. Kekeruhan akan berbeda-beda pula sesuai dengan jumlah bakteri serta dapat diukur dengan menggunakan alat turbidimeter. Kemudian dibandingkan dengan kekeruhan yang terjadi pada zat antimikroba pembanding yang mendapat perlakuan yang sama.

b. Cara difusi

Cara difusi adalah proses perembesan larutan contoh pada media.

Pada metode ini, kemampuan zat antimikroba ditentukan berdasarkan daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan dari mikroba pada media tersebut. Beberapa modifikasi dari cara difusi adalah:

Cara difusi dengan plat silinder

Cara ini didasarkan atas perbandingan antara daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan dari mikroba dengan daerah hambatan yang terjadi oleh larutan pembanding.Pada cara ini digunakan plat silinder yang diletakkan pada media. Larutan contoh dimasukkan ke dalamnya.

2. Cara difusi dengan cup plate

Cara ini sama dengan plat silinder. Perbedaanya adalah menggunakan alat berupa mangkok yang dibuat langsung dari media agarnya.

3. Cara difusi dengan kertas saring

Cara ini menggunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk serta ukuran tertentu, biasanya berbentuk bulat, dengan diameter 0,7-1 cm yang nantinya akan dicelupkan ke dalam larutan contoh dan pembanding. Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi dengan melihat daerah hambatan yang terjadi.

4. Cara difusi dengan metode Kirby bauer

Prinsip kerjanya sama dengan cara difusi kertas saring. Perbedaanya, cara ini menggunakan alat untuk meletakkan kertas saring dan cawan petri yang digunakan berukuran 150 x 15 mm sehingga langsung dapat diuji dengan berbagai variasi konsentrasi larutan contoh.

5. Cara difusi dengan metode agar lapis

Cara ini merupakan modifikasi dari cara Kirby bauer. Perbedaannya, cara ini menggunakan dua lapisan agar, lapisan pertama tidak mengandung bakteri (base layer) sedangkan lapisan kedua mengandung bakteri yang tercampur dalam media agar (seed layer).

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

II.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah cawan petri, gelas ukur (*Pyrex*[®]), gelas Erlenmeyer (*Pyrex*[®]),termometer, rotavapor (*Buchii*[®]), timbangan analitis (*Sartorius*[®]),mikropipet 100 μl-1000 μl, stirer, wadah.

Bahan-bahan yang digunakanadalahair suling, aseton, aquadest, biakan murni Staphylococcus aureus, butanol, etanol 70%, etanol 96%, etil asetat, heksan, kertas cakram, medium Mueller Hinton Agar (MHA), medium Nutrient Broth (NB),metanol, parafin cair, propolis.

II.2. Metode Kerja

II.2.1 Sterilisasi Alat (10)

Alat-alat yang diperlukan dicuci dengan detergen sintetik, wadah dengan mulut lebar dibersihkan kemudian dibilas dengan air bersih dan terakhir dengan air suling. Alat-alat gelas seperti cawan petri dan gelas Erlenmeyer disumbat dengan kapas bersih kemudian dibungkus dengan kertas perkamen dan disterilkan dalam oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Gelas ukur dan alat-alat plastik (tidak tahan terhadap pemanasan tinggi) disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Ose dan pinset disterilkan dengan pemanasan langsung hingga memijar selama 30 detik.

III.2.2 Pengambilan Sampel Penelitian

Bahan penelitian berupa propolis diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Unhas.

II.2.3 Ekstraksi Sampel Propolis (2,3,7,8)

Dibuat stok suspensi propolis dengan cara ditimbang 200 g propolis kemudian digerus dengan 100 ml parafin cair agar terdispersi dengan baik. Selanjutnya diambil 20 g suspensi propolis ke dalam gelas Erlenmeyer dan ditambahkan 200 mlmasing-masing pelarut. Dihomogenkan menggunakan magnetik stirer selama 4 jam dengan kecepatan 150 rpm. Setelah 4 jam, filtrat propolis diambil dengan cara disaring kemudian ditambahkan lagi 200 ml masing-masing pelarut terhadap residu ekstrak propolis dan dihomogenkan menggunakan magnetik stirer. Hal ini diulang sebanyak empat kali agar dapat dipastikan zat aktif propolis terekstraksi secara sempurna. Ekstrak kemudian dikumpulkan dan dikeringkan dengan cara penguapan dalam rotavapor.

Stok suspensi propolis diekstraksi masing-masing dengan pelarut heksan, etil asetat, aseton, butanol, metanol, etanol 96%, etanol 70% dan air dengan proses ekstraksi yang sama diatas.

III.3 Pengujian Aktivitas Antibakteri

II.3.1 Pembuatan dan Sterilisasi Medium (18, 19)

a. Medium Nutrien Broth (NB)

Komposisi:

Ekstrak daging

3 g

Pepton

5 g

Air suling sampai

1000 ml

Cara membuat :

Pada medium Nutrient Broth (NB) sintetik terdapat 8 gram dalam 1000 ml. Dibuat 25 ml, sehingga konversi :

1000 ml

Ditimbang medium NB sintetik sebanyak 0,2 gram. Kemudian dilarutkan dengan air suling hingga 25 ml dalam gelas Erlenmeyer. Dipanaskan hingga larut menggunakan kompor listrik. Setelah larut, medium NB tersebut di cek pH menggunakan pH meter. Gelas Erlenmeyer selanjutnya disumbat dengan kapas dan disterilkan pada otoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit dengan tekanan 2 atm.

b. Medium Mueller Hinton Agar (MHA)

Komposisi:

Ekstrak daging 30 g

Hidrolisat kasein 1,75 g

Pati 0,15 g

Agar 1,7 g

Air suling sampai 1000 ml

Cara membuat :

Pada Medium Mueller Hinton Agar (MHA) sintetik terdapat 38 gram dalam 1000 ml. Dibuat 50 ml, sehingga konversi :

Ditimbang MHA sintetik sebanyak 1,9 gram. Kemudian dilarutkan dengan air suling hingga 50 ml dalam gelas Erlenmeyer. Dipanaskan hingga larut menggunakan kompor listrik. Setelah larut, medium MHA di cek pH menggunakan pH meter. Gelas Erlenmeyer tersebut disumbat dengan kapas dan disterilkan pada otoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit dengan tekanan 2 atm.

II.3.2 Penyiapan Mikrobiologi

II.3.2.1 Peremajaan Mikroba Uji (17)

Kultur murni dibuat dengan menginokulasikan 1 ose biakan bakteri Staphylococcus aureuspada medium Nutrient Broth (NB) dalam tabung reaksi kemudian diinkubasikan selama 1 x 24 jam pada inkubator aerob.

II.3.3Uji Aktivitas Antibakteri (9)

Medium MHA (Mueller-Hinton Agar) steril dituang ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml secara aseptis dan 1 ml suspensi bakteri Staphylococcus aureus dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Ekstrak kental propolis masing-masing didispersikan dengan DMSO hingga diperoleh ekstrak propolis cair. Selanjutnyapaper disc ditetesi dengan

ekstrak propolis tersebut sebanyak 20 µl dan diletakkan secara aseptis pada permukaan media yang telah memadat. Setelah itu diinkubasi selama 1 x 24 jam pada inkubator aerob, lalu diamati dan diukur daerah hambatan yang terbentuk dengan jangka sorong. Hasil dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 1 dan gambar 2.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

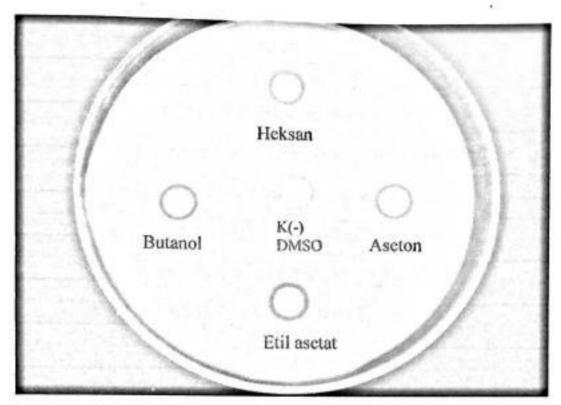
Ekstrak propolis yang diperoleh dengan menggunakan cairan penyari heksan, etil asetat, aseton, butanol, etanol 96%, etanol 70%, metanol serta air diuji efek antimikroba diperoleh hasil pengamatan setelah masa inkubasi 1 x 24 jam terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukan adanya hambatan di sekitar paper disk. Data rata-rata diameter hambatan ekstrak propolis terhadap *Staphylococcus aureus* sebagai berikut:

Tabel 1: Hasil pengukuran rata-rata diameter hambatan (mm) ekstrak propolis terhadap Staphylococcus aureus.

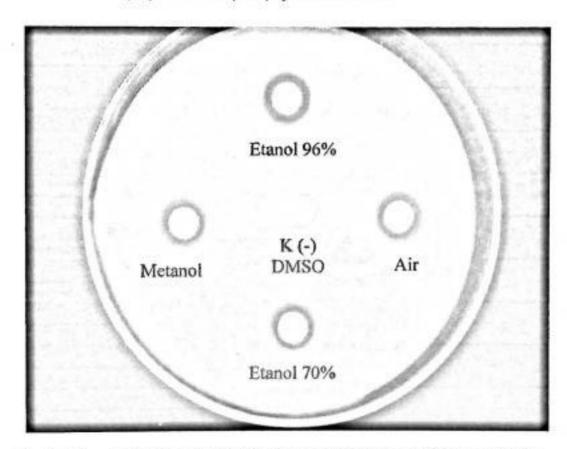
Jenis Ekstrak Propolis	Rata-rata diameter hambat terhadap Staphylococcus aureus (mm)			
Heksan	7,380			
Etil Asetat	8,057			
Aseton	8,037			
Butanol	8,004			
Etanol 96%	11,710			
Etanol 70%	10,055			
Metanol	9,749			
Air	10,395			
Kontrol (-)	•			
STANDARD CONTROL				

Keterangan : Replikasi 3 kali

Kontrol (-) : DMSO



Gambar 1. Foto diameter daya hambatan ekstrak heksan, etil asetat, aseton dan butanol dari propolis terhadap Staphylococcus aureus



Gambar 2. Foto diameter daya hambatan ekstrak etanol 96%, etanol 70&, metanol dan air dari propolis terhadap Staphylococcus aureus

IV.2 Pembahasan

Pengujian efek antibakteri propolis terhadap bakteri uji Staphylococcus aureus dilakukan dengan menggunakan ekstrak heksan, etil asetat, aseton, butanol, etanol 96%, etanol 70%, metanol dan air dari propolis. Pada saat pembuatan medium, ketebalan medium pada masing-masing cawan petri dipastikan mempunyai ketebalan medium yang sama, pada temperatur inkubator yang sama, serta penuangan medium maupun peletakan paper disc yang tidak ada perbedaan. Sehingga tidak terdapat perbedaan pada cawan petri yang digunakan.

Berdasarkan hasil pengukuran diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji dari masing-masing ekstrak propolis diketahui bahwa tiap ekstrak propolis dapat menghambat pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus. Hal ini ditandai dengan adanya bening disekitar cakram kertas.

Hasil pengukuran hambatan terhadap Staphylococcus aureus diperoleh rata-rata diameter hambatan untuk ekstrak heksan, etil asetat, aseton, butanol, etanol 96%, etanol 70%, metanol, serta ekstrak air, berturut-turut, yaitu 7,38 mm; 8,057 mm; 8,037 mm; 8,004 mm; 11,71 mm; 10,055 mm; 9,749 mm; 10,395 mm (tabel 1). Sedangkan kontrol (-) tidak terbentuk diameter hambatan. Dengan uji daya hambat terhadap bakteri Staphylococcus aureus menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% propolis yang paling besar dalam menghambat.

Hasil analisis statistik dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) terhadap pengaruh cairan pengekstraksi terhadap aktivitas antibakteri propolis menunjukkan pengaruh yang nyata, hal ini dapat dilihat pada F hitung > dari F tabel (α = 5 %) dan nilai KK (koefisien keragaman) sebesar 11,42%. Dari hasil KK yang diperoleh maka dilakukan analisis lanjutan dengan Metode Duncan dan hasil Duncan pada taraf kritis 5% juga memberikan hasil selisih ekstrak heksan-etil asetat, heksan-aseton, heksan-butanol, etil asetat-aseton, etil asetat-butanol, aseton-butanol, etanol-96%-etanol 70%, etano 96%-air, etanol 70%-metanol, etanol 70%-air, methanol-air tidak berbeda nyata, walaupun dalam pengukuran ada perbedaan namun dalam statistik tidak ada perbedaan jarak nyata atau masih dianggap sama. Sedangkan selisih antar ekstrak heksan-etanol 96%, heksan-etanol 70%, heksan-metanol, heksan-air, etil asetat-etanol 96%, etil asetat-etanol 70%, etil asetatmetanol, etil asetat-air, aseton-etanol 96%, aseton-etanol 70%, asetonmetanol, aseton-air, butanol-etanol 96%, butanol-etanol 70%, butanolmetanol, butanol-air, etanol 96%-metanol lebih besar dari pembanding (taraf 5%) karena adanya perbedaan jarak nyata terkecil, hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh jenis cairan pengekstraksi terhadap aktivitas antibakteri propolis. Dengan demikian, ekstrak etanol 96%, ekstrak etanol 70%, ekstrak metanol dan ekstrak air propolis memberikan daya hambat optimal terhadap bakteri Staphylococcus aureus.

Besar kecilnya zona hambatan yang terbentuk disebabkan oleh adanya perbedaan komponen senyawa kimia yang terdapat dalam masing-masing ekstrak propolis. Senyawa yang bersifat antibakteri pada propolis juga tertarik pada cairan pengekstraksi non polar namun tidak sebesar yang tertarik pada cairan pengekstraksi polar seperti etanol 96%, etanol 70%, metanol dan air. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Ardo Sabir (2005), aktivitas antibakteri propolis disebabkan oleh senyawa yang terkandung didalamnya yaitu flavonoid. Sifat flavonoid itu sendiri yaitu larut dalam pelarut polar dan sedikit larut pada pelarut organik.

Ekstrak heksan, etil asetat, aseton dan butanol memiliki persen (%) rendamen yang lebih tinggi yaitu 85%, 55%, 80%, 45%dibandingkan ekstrak etanol 96%, etanol 70%, metanol dan air berturut-turut 35%, 22,5%, 30% dan 20%.

Setelah didapatkan jenis cairan pengekstraksi yang cocok untuk propolis, ini menjadi patokan untuk selanjutnya digunakan dalam formulasi sediaan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa :

- Ada pengaruh cairan pengekstraksi terhadap aktivitas antibakteri propolis terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus.
- Ekstrak etanol 96%, ekstrak etanol 70%, ekstrak metanol dan ekstrak air propolis memberikan daya hambat optimal terhadap bakteri Staphylococcus aureusdengan diameter masing-masing 11,710 mm; 10,055 mm; 9,749 mm; 10,395 mm.

V.2 Saran

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai isolasi komponen kimia yang terdapat dalam propolis.

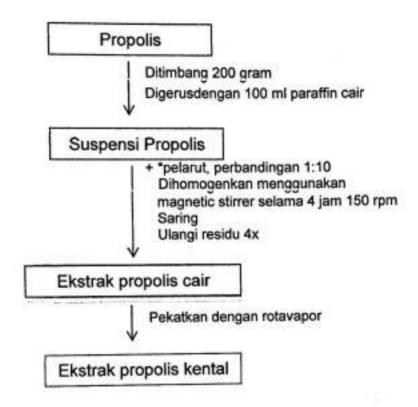
DAFTAR PUSTAKA

- Lotfi, M. Biological Activity of Bee Propolis in Health and Disease. Asian Pac J Cancer Prev. 2006. Vol 7. Hal. 22-31
- Sabir, A. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigona Sp. Terhadap Bakteri Streptococcus mutans (in vitro). Maj. Ked. Gigi. (Deny. J.), Vol 38. No.3 Juli-September 2005. Hal. 135-141
- Jaya, F., Radiati, L., Umam, K., Kalsum, U. Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis Terhadap Kekebalan Seluler Pada Tikus Putih (Rattusnorvegicus). Universitas Brawijaya, Malang. 2008
- Kaal, J., 1991, Natural Medicine from Honey Bees, Kaal's Printing House, Den Haag, Hal. 9-21
- Koo, H., Effects of Compounds Found in Propolis on Streptococcus mutans Growth. American Society for Microbiology. May 202. Hal. 1302-1309.
- Boyanova, L., Activity of Bulgarican Propolis Against 94
 Helicobacter pylori strains in vitro. Journal of Medical Microbiology.
 2005. Hal. 481-483
- Grange, J.M., Davey, R.W. Antibacterial Properties of Propolis (Bee Glue). Journal of the Royal Society of Medicine. Maret 1990. Vol 83. Hal. 159-160.
- Hasan, Z.A.E., Artika, Made., Kasno. Uji Aktivitas Antibakteri Propolis Lebah Madu: 2006: Prosiding Seminar Nasional HKI 2006; Bogor, Indonesia. DepartemenBiokimia FMIPA, IPB.
- Najafi, F.M., Vahedy, F., Seyyedin, M. Effect of the Water Extracts of Propolis on Stimulation and Inhibition of the Different Cells. Original Research. Cytotechnology. 11 April 2007. Hal. 49-56.
- Jenkins, G.L., 1957. The Art of Compounding. Ninth Edition.
 MGraw-Hill Book Company. New York Toronto London. Hal. 230
- Harbourne, HB., 1987. Metode Fitokimia. Ed ke-2. Penerbit ITB. Bandung. Hal. 6-8

- Djide, N., Sartini., 2008. Analisis Mikrobiologi Farmasi. Cetakan Kedua. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar. Hal. 280
- Pelczar, M. J. dan Chan E.C.S. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Ed 2. UI – Pres. Jakarta. 1986. Hal. 817
- Buchanan, R. E. dan Gibbons, N. E. 1974. Bergey's Manual of Determinative Becteriology. Eight Edition. The Williams & Walkins Company. Baltimore. USA. Hal. 531-532
- McGhee, J. R., Michalek, S. M., Cassel, G. H. 1982. Dental Microbiology. Harper and Row. Publishers. Inc. Eas Washington Square. Philadelphia. Pennsylvania. Hal. 680
- Direktorat Jendral POM. 1986. Sediaan Galenik. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hal. 2, 8-28
- 17.Ganiswarna, G. S. 1995. Farmakologi dan Terapi. Edisi IV. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran-Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. 571-573
- Wattimena. 1995. Farmakodinamik dan Terapi Antibiotika. Universitas Airlangga Press. Surabaya
- 19. Suriawiria, Unus, Pengantar Mikrobiologi Umum, Angkasa: Bandung, 1986. Hal. 60-63.
- Cappucino, J.G. dan Shorman, N. 1978. Microbiology Laboratory Manual. Third Edition. Cummings Publishing Company Inc. New York. Hal. 57, 67, 91, 123
- 21. Merc, E. 1988. Culture Media Handbook. Darmstaad. Hal. 123-124, 131
- Djide, M.N. dan Sartini. 2006. Penuntun praktikum IstrumentasiMikrobiologi Farmasi Dasar. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Makassar. Hal. 3

LAMPIRAN I

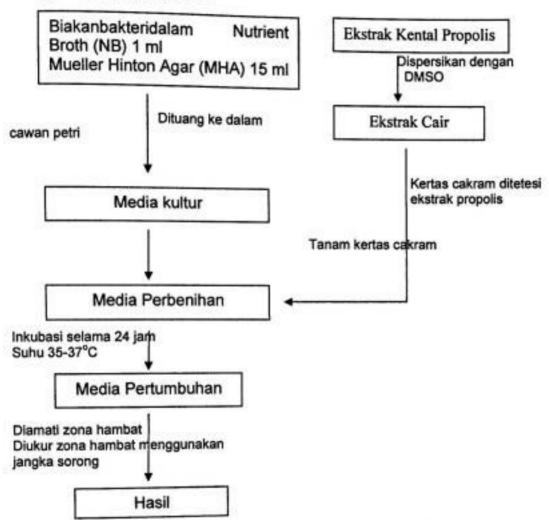
Ekstraksi



Keterangan: *pelarut, dilakukan masing-masing untuk tiap pelarut heksan, etil asetat, aseton, butanol, etanol 96%, etanol 70%, metanol dan air.

Lampiran II

UjiAktivitasAntibakteri



LAMPIRAN III

Perhitungan Statistik Daya Hambat Ekstrak Propolis Berdasarkan Rancangan Acak Lengkap

Tabel 2 : Hasil pengukuran diameter zona hambatan (mm) ekstrak propolis terhadap Staphylococcus aureus

leplikasi				Perlaku	an (t)					
(r)	Jenis Ekstrak Propolis									
	Heksan	Etil Asetat	Aseton	Butanol	Etanol 96%	Etanol 70%	Metanol	Air		
1	7,054	8,057	7,696	8,004	11,059	10,048	9,388	10,343		
2	7,38	7,359	8,037	7,671	11,71	10,049	8,713	9,741		
3	7,013	8,01	7,671	7,345	9,729	10,055	9,749	10,395		
Fotal (y)	21,447	23,426	23,404	23,02	32,498	30,152	27,85	30,479	212,276	
Rata-rata	7,149	7,809	7,801	7,673	10,833	10,051	9,283	10,160	70,759	

A. Perhitungan Derajat Bebas (DB)

DbT =
$$(r.t)-1 = (3.8) - 1 = 23$$

DbG = DbT - DbP =
$$23 - 7 = 16$$

B. Perhitungan Jumlah Kuadrat

FK =
$$\frac{Y^2}{r.t}$$

= $\frac{45061,1}{24}$
= $1877,55$

1.
$$JKT=(\sum x^2) - FK$$

= $(7,054^2 + 7,38^2 + 7,013^2 + ... + 9,741^2 + 10,395^2) - 1877,55$
= $19222,297 - 1877,55$
= $44,747$

2. JKP =
$$\sum (Ti^2) - FK$$

= $\frac{(21,447^2 + 23,426^2 + + 27,152^2 + 30,479^2)}{3} - 1877,55$
= 1905,96-1877,55
= 28,41

C. Perhitungan Kuadrat tengah (KT)

1. KTP =
$$\frac{JKP}{DbP}$$
 = $\frac{28,41}{7}$ = 4,059
2. KTG = $\frac{JKG}{DbG}$ = $\frac{16,337}{16}$ = 1,021

D. Perhitungan Distribusi F (Fh)

FhP =
$$\frac{KTP}{KTG}$$
 = $\frac{4,059}{1,021}$ = 3,975

Tabel Analisis Varians (ANAVA)

2.102.00220000000000	l Lessenesa i				Fta	abel
Sumber Keragaman	DЬ	JK	кт	Fh	5%	1%
Perlakuan (P)	7	28,41	4,059	3,975*	3,239	5,292
Galat (G)	16	16,337	1,021			
Total (T)	18	44,747	1000			

Keterangan : () berbeda nyata

Nilai tengah (y) =
$$\frac{Tij}{rI}$$
 = $\frac{212,276}{24}$ = 8,845

Koefisien Keragaman (KK) =
$$\frac{\sqrt{KTG}}{y}$$
 x 100%
= $\frac{\sqrt{1,021}}{8,845}$ x 100% = 11,42 %

Kesimpulan: Dari tabel anava di atas terlihat bahwa Fh>Ft 5% artinya ada pengaruh cairan pengekstraksi terhadap aktivitas antibakteri propolis. Dengan nilai Fh>Ft 5% dan KK sebesar (11,42%) maka analisis statistik dilanjutkan dengan Uji Lanjutan dengan metode Duncan's.

Analisis Lanjutan dengan Metode Duncan's

1. Diurutkan rata-rata perlakuan :

Α	В	С	D	E	F	G	н
7 149	7 800	7 004	7.070				1000
1,145	7,009	7,001	7,673	10,833	10,051	9,283	10,160

2. Dihitung Galat dari nilai rata-rata perlakuan :

$$\frac{\sqrt{KTG}}{r} = \frac{\sqrt{1,021}}{3} = 0,3368$$

3. Ditentukan nilai "Jarak Nyata" untuk taraf 5% dihitung

Р	2	3	4	5	6	7	8
JN	1,0104	1,2293	1,3640	1,4617	1,5358	1,5964	1,6503

4. Perbandingan analisis antara konsentrasi pada taraf 5%

A - B = 0,66 th	C - E = 3,032**
A - C =0,652 tn	C - F = 2,25**
A - D = 0,524 tn	C - G = 1,482**
A - E = 3,684**	C - H = 2,359**
A - F =2,902**	D - E = 3,16**
A – G = 2,134** A – H = 3,011**	D - F = 2,378**
B - C = 0,008 tn	D – G = 1,61**
B - D = 0,136 tn	D – H = 2,487**
B - E = 3,024**	E - F = 0,782 th
B-F=2,242**	E – G = 1,55**
B - G = 1,474 tn	E - H = 0,673 tn
B - H = 2,351**	F - G = 0,768 tn
C - D = 0,0128 tn	F - H = 0,109 tn
	G - H = 0,877 tn

Keterangan : (**)berbeda nyata, (^{tn}) tidak berbeda nyata

Lampiran IV

Foto propolis

