**Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi**
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
*Volume 11, Issue 2, December 2023; Page, 1933-1945*
*Email: bioscientist@undikma.ac.id*

# UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL PROPOLIS DARI LEBAH KELULUT (*Heterotrigona itama*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* DAN *Staphylococcus aureus*

**Dyah Tantri Wulandari[1], Supomo[2]*, & Husnul Warnida[3]**
[1,2,&3]Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda, Jalan Abdul Wahab Syahrani Nomor 226, Samarinda, Kalimantan Timur 75242, Indonesia
**Email: fahmipomo@gmail.com*
*Submit: 17-10-2023; Revised: 14-11-2023; Accepted: 30-11-2023; Published: 30-12-2023*

**ABSTRAK:** Penyebab infeksi, salah satunya oleh terjadinya luka. Penanganan luka infeksi menggunakan antibiotik. Namun penggunaan antibiotik yang tidak tepat menyebabkan resistensi. Maka digunakan bahan alternatif lain dari bahan alam, yaitu propolis dari lebah *Heterotrigona itama*. Penelitian ini bertujuan mengetahui daya hambat KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dari ekstrak metanol propolis dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50% terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Jenis penelitian ini menggunakan penelitan eksperimental dengan teknik *sampling non probability*, yaitu *purposive sampling*. Metode ekstraksi menggunakan maserasi pelarut metanol. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram, kontrol positif klindamisin 0,1%, dan kontrol negatif DMSO. Variabel bebas adalah konsentrasi ekstrak metanol propolis dan variabel terikatnya, yaitu zona hambat yang terbentuk dan nilai KHM dan KBM. Data hasil pengujian dianalisis secara statistik menggunakan metode uji ANOVA. Ekstrak metanol propolis lebah *Heterotrigona itama* menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 10%:7,74 mm, 20%:8,05 mm, 30%:10,00 mm, 40%:10,05 mm, dan 50%:12,25 mm, serta dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 10%:7,05 mm, 20%:8,00 mm, 30%:10,20 mm, 40%:11,15 mm, dan 50%:12,05 mm. KHM dan KBM ekstrak metanol propolis pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* sebesar 100mg/ml. Hasil uji statistik menunjukan semua konsentrasi ekstrak metanol propolis memiliki perbedaan nyata dengan kontrol positif klindamisin 0,1%.

**Kata Kunci:** *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, Propolis, *Heterotrigona itama*, Aktivitas Antibakteri.

***ABSTRACT:*** *One of the causes of infection is influenced by the occurrence of wounds. Treatment of infected wounds using antibiotics. But antibiotics causes resistance. Then another alternative material from natural ingredients is used, is Propolis from Heterotrigona itama bees. This study aims to determine the inhibition, MIC and MBC of Propolis methanol extract with concentrations of 10%,20%30%,40%,50% against Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus. Research uses experimental research with a non-probability sampling technique, purposive sampling. The extraction method uses methanol solvent maceration. Antibacterial test was carried out by disc diffusion method, positive control of 0.1% clindamycin, negative control of DMSO. The independent variable is the concentration of propolis methanol extract and the dependent variable is the inhibition zone formed and the MIC and MBC values. Analyzed statistically using the ANOVA. Propolis methanol extract inhibited Pseudomonas aeruginosa bacteria at concentrations of 10%:7.74mm, 20%:8.05mm, 30%:10.00mm, 40%:10.05mm, 50%:12,25mm, and can inhibit the growth of Staphylococcus aureus bacteria at concentrations of 10%:7,05mm, 20%:8.00mm, 30%:10.20mm, 40%:11.15mm, 50%:12,05mm. MIC and MBC methanol extract of propolis on the bacteria Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus of 100 mg/ml. Statistical test results showed that all concentrations of propolis methanol extract had a significant difference with the positive control of Clindamycin 0.1%.*

***Keywords:*** *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Propolis, Heterotrigona itama, Antibacterial Activity*.

**Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi**
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
*Volume 11, Issue 2, December 2023; Page, 1933-1945*
*Email: bioscientist@undikma.ac.id*

***How to Cite:*** Wulandari, D. T., Supomo., & Warnida, H. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Propolis dari Lebah Kelulut (*Heterotrigona itama*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, *11*(2), 1933-1945. https://doi.org/10.33394/bioscientist.v11i2.9373

**Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi** *is Licensed Under a CC BY-SA Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License*.

## PENDAHULUAN

Infeksi merupakan proses invasi dan multiplikasi berbagai mikroorganisme ke dalam tubuh, seperti bakteri, virus, jamur, dan parasit yang kemudian menimbulkan cidera jaringan. Penyebab timbulnya infeksi, salah satunya dipengaruhi oleh terjadinya luka. Pada saat tubuh mengalami luka, bakteri akan masuk ke dalam tubuh melalui jaringan tubuh yang kemudian akan menimbulkan infeksi pada tubuh (Ningsih *et al.*, 2013). Pada identifikasi kuman pada pus (nanah) dari luka infeksi kulit didapatkan 2 jenis kuman dari hasil isolasi pus, yaitu *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, penanganan luka infeksi biasanya menggunakan antibiotik (Ekawati *et al.*, 2018), tetapi efek penggunaan antibiotik yang tidak tepat menyebabkan resistensi. Resistensi antibiotik adalah terjadinya perubahan kepekaan mikroorganisme akibat antibiotik, sehingga dibutuhkan konsentrasi yang lebih tinggi untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang resisten dibandingkan dengan galur yang peka (Pratiwi, 2017). Salah satu faktor penting yang berkontribusi meningkatkan resistensi adalah penggunaan antibiotik yang tidak rasional dan antibiotik secara tunggal (Walsh *et al.*, 2016). Berdasarkan hal tersebut, maka dicari alternatif lain dalam mengobati infeksi dengan menggunakan bahan-bahan dari alam (Jannah & Safnowandi, 2018; Utami & Rosa, 2021). Salah satu bahan alam yang sering dijumpai dan sebagai antibakteri adalah propolis dari lebah tanpa sengat *Heterotrigona itama*.

Jenis lebah *Heterotrigona itama* merupakan spesies lebah penghasil madu tanpa sengat yang tergabung dalam *Famili Meliponidae*. Ciri fisik dari lebah ini adalah tidak memiliki sengat dan berukuran kecil (Francoy *et al.*, 2019). Secara alami, serangga ini membuat sarang di lubang pohon, celah-celah dinding, dan rongga-rongga bambu, sumber pakan lebah berupa polen, nektar, dan resin. Lebah termasuk hewan herbivora (Achyani & Wicandra, 2019). Sarang lebah Heterotrigona selain menghasilkan madu, *royal jelly*, *bee pollen*, dan propolis yang memiliki khasiat bagi kesehatan tubuh manusia (Syafrizal *et al.*, 2016). Produk alami lebah ini diketahui memiliki manfaat sebagai antibakteri, antifungi, antikanker, antiinflamasi, antiasma (Campos *et al.*, 2015; de Farias *et al.*, 2014; Lopez *et al.*, 2019).

Propolis merupakan salah satu zat yang dihasilkan lebah yang terdiri dari campuran air liur lebah dan eksudat tanaman yang dikumpulkannya (Mardiah, 2017). Secara empiris, propolis diyakini sebagai salah satu bahan alam yang relatif aman dan memiliki banyak manfaat (Lutpiatina, 2015). Manfaat propolis secara umum sebagai obat atau suplemen, pencuci mulut, anti peradangan, terapi penyakit, mempercepat penyembuhan luka, dan lain-lain. Kandungan kimia

**Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi**
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
*Volume 11, Issue 2, December 2023; Page, 1933-1945*
*Email: bioscientist@undikma.ac.id*

propolis menurut Rosyidi *et al*. (2018), memiliki senyawa-senyawa kimia yang sangat banyak dan berbeda-beda tergantung dari lingkungan di sekitar peternakan lebahnya, sehingga terdapat perbedaan senyawa pada propolis yang ada di Indonesia. Pada umumnya kandungan kimia propolis, yaitu terdiri dari asam amino, terpenoid, dan polifenol (asam fenolik, ester, dan flavonoid) (Pujirahayu *et al.*, 2014). Flavonoid merupakan salah satu kandungan yang penting di dalam propolis yang memiliki efek sebagai antioksidan, antikanker, antiinflamasi, antialergi, antivirus, dan antibakteri (Grumezescu & Holban, 2018; Hermalinda *et al.*, 2019; Rismawati & Ismiyati, 2017).

Penelitian Lutpiatina (2015), menyebutkan propolis memiliki sifat antibakteri, zona hambat ekstrak etanol propolis lebah kelutut (*Trigona* sp) yang berasal dari daerah Kalimantan Selatan pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 6,4 mm; 10 mm; 12,6 mm; 14,4 mm; dan 16,4 mm. Penelitian Wardaniati & Gusmawarni (2021), menyatakan ekstrak etanol propolis lebah (*Trigona* sp) yang berasal dari daerah Pekanbaru memiliki aktivitas zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, yaitu pada konsentrasi 40% (8 mm), konsentrasi 60% (9,3 mm), dan konsentrasi 80% (11 mm). Ekstrak metanol propolis menunjukkan laju hambat tertinggi pada konsentrasi 750 µg/mL (6 mm) dan 1000 µg/mL (10 mm) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan ekstrak heksana dan etil asetat (Yusop *et al.*, 2018). Penelitian Mayangsari (2013), menyatakan ekstrak propolis lawang terhadap *Fusobacterium nucleatum* diperoleh KHM (Kadar Hambat Minimum) dengan konsentrasi 1,48% dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dengan konsentrasi 1,54%.

Berdasarkan manfaat propolis dan mudahnya budidaya lebah *Heterotrigona*, maka dilakukan penelitian menggunakan propolis lebah *Heterotrigona itama* yang dibudidayakan peternak di daerah Kecamatan Palaran, Kota Samarinda, Kalimantan Timur, untuk mengetahui sifat antibakteri ekstrak metanol propolis terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

## METODE

### Alat dan Bahan yang Digunakan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu alat gelas (*pyrex*), *blender*, *vortex*, *hotplate* (*Ceran*®), cawan petri, lampu spiritus, autoklaf, inkubator, *magnetic stirer*, mikropipet ukuran 5,50 µm, timbangan analitik, jangka sorong, penangas air, *laminator airflow cabinet* (LAF), maserator, *rotary evaporator*, *spektrofotometer*, pisau, dan talenan. Bahan yang digunakan untuk penelitian ini yaitu, metanol, propolis lebah *Heterotrigona itama*, kertas saring, kapas steril, air suling, media MHA, klindamisin 0,1%, DMSO, dan NaCl 0,9%.

### Prosedur Kerja Penelitian

#### *Penyiapan Simplisia*

Propolis diambil dari daerah Palaran, Samarinda, Kalimantan Timur pada bulan Februari 2023, yang kemudian dilakukan sortasi basah dengan tujuan untuk memisahkan propolis dari sarangnya, serta memisahkan dari pengotor.

**Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi**
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
*Volume 11, Issue 2, December 2023; Page, 1933-1945*
*Email: bioscientist@undikma.ac.id*

***Skrining Fitokimia***

1) Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL air suling, dipanaskan di atas tangas air selama 2 menit, didinginkan, dan disaring. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk uji alkaloid. Diambil 3 tabung reaksi, masing-masing tabung dimasukkan 0,5 mL filtrat. Masing-masing tabung reaksi ditambahkan 2 tetes pereaksi *mayer*, *bouchardat*, dan *dragendorf*. Alkaloid positif jika terjadi endapan. Bila sedikitnya 2 dari 3 pereaksi di atas positif, maka sampel dinyatakan mengandung alkaloid, yaitu terbentuknya endapan putih pada pereaksi *mayer*, coklat pada pereaksi *bouchardat*, dan endapan merah bata pada pereksi *dragendorf* (Handayani *et al.*, 2019; Nafisah *et al.*, 2014).

2) Saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 mL air panas, dinginkan sebentar, setelah dingin dikocok kuat selama 15 menit, apabila terbentuk buih yang mantap selama 10 menit dan buih setinggi 1-10 cm, serta saat di tetesi 1 tetes asam klorida 2 N buih masih ada, maka sampel tersebut mengandung senyawa saponin (Handayani *et al.*, 2019).

3) Flavonoid

Sebanyak 1 gram ekstrak ditambahkkan 10 ml air panas, lalu didihkan selama 5 menit, disaring dalam keadaan masih panas. Filtrat yang diperoleh diambil sebanyak 5 mL, lalu ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium, 1 mL HCl dan 2 mL amil alkohol, kemudian dikocok dan dibiarkan memisah. Sampel mengandung flavonoid apabila terjadi perubahan warna merah pada lapisan amil alkohol (Handayani *et al.*, 2019).

4) Tanin

Larutan sampel sebanyak 1 mL direaksikan dengan larutan besi (III) klorida 10%, jika terjadi warna biru tua, biru kehitaman, atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (Handayani *et al.*, 2019).

5) Fenol

Sejumlah sampel dilarutkan atau diekstrak dengan 20 mL etanol 70%. Larutan yang dihasilkan diambil 1 mL, kemudian ditambahkan 2 tetes $FeCl_3$ 5%. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warna hijau atau hijau biru (Anisa & Najib, 2022).

6) Kuinon

Sampel sebanyak 5 mL larutan percobaan yang diperoleh dari identifikasi flavonoid dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan beberapa tetes larutan NaOH 1 N. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya senyawa golongan kuinin (Lestari & Andriani, 2020).

**Uji Aktivitas Antibakteri**

Kertas cakram direndam ke dalam ekstrak metanol propolis dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%, kontrol positif klindamisin 0,1%, dan kontrol negatif DMSO 1% selama 3 menit. Disiapkan 15 cawan petri, kemudian tuang media MHA sebanyak 20 mL, selanjutnya didiamkan hingga memadat. Dicelupkan lidi kapas steril ke dalam suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, tunggu sebentar sampai meresap, kemudian lidi diangkat lalu diperas dengan cara menekankan pada dinding

**Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi**
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
*Volume 11, Issue 2, December 2023; Page, 1933-1945*
*Email: bioscientist@undikma.ac.id*

tabung. Diambil 100 µL menggunakan mikropipet dan diletakan pada cawan petri berisi media agar kemudian dioles menggunakan lidi kapas steril tadi sampai seluruh permukaan media agar tertutup rapat dan dibiarkan selama 5-15 menit bertujuan agar suspensi bakteri meresap ke dalam media agar. Kertas cakram yang telah direndam diletakan pada permukaan media MHA yang telah diinokulasikan bakteri. Cawan petri dibiarkan pada suhu ruang selama 1 jam sebelum diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengujian dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali (Ismarani *et al.*, 2016).

**Pengujian KHM dan KBM**

Pada pengamatan pengujian kertas cakram, dilihat zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Setelah mendapatkan zona hambat, *range* konsentrasi zona hambat digunakan untuk menentukan KHM dan KBM dengan metode dilusi padat. Variasi konsentrasi dilusi padat dibuat berdasarkan konsentrasi terkecil yang masih memberikan zona hambat dari uji potensi antibakteri. Suspensi bakteri uji dan ekstrak yang telah dilarutkan sesuai variasi konsentrasi, diinokulasikan secara *pour plate* dalam media MHA dengan perbandingan suspensi bakteri : ekstrak (1:1) diinkubasi dalam suhu 37°C selama 24 jam. Media yang paling jernih adalah media uji dengan kadar terkecil dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai KHM. Hasil yang ditetapkan sebagai KHM dilakukan penegasan hasil dengan melakukan *streak* pada media MHA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada hasil *streak* diamati berdasarkan kekeruhan pertumbuhan bakteri pada media. Jika media tetap terlihat jernih, maka hasil tersebut ditetapkan sebagai KBM (Murtiwi, 2014).

**Analisis Data Penelitian**

Metode pengumpulan data yang digunakan adalah uji eksperimental berupa data yang kuantitatif. Data kuantitatifnya berupa daya antibakteri yang didapat dari uji aktivitas antibakteri. Jika data berdistribusi normal, maka diuji dengan metode ANOVA. Terlebih dahulu dilakukan uji *kolmogorov smirnov* untuk menentukan data tersebut berdistribusi normal atau tidak dilanjutkan dengan uji homogenitas. Selanjutnya, dilakukan uji LSD untuk mengetahui perbedaan yang secara nyata pada perbedaan perlakuan dan hasil yang diperoleh.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil identifikasi yang dilakukan, yaitu menggunakan propolis dengan kriteria sarang yang memiliki tekstur yang rapuh dan berwarna gelap, diambil dari daerah Kecamatan Palaran, Kota Samarinda, Kalimantan Timur. Propolis diekstrak menggunakan pelarut metanol dengan metode ekstraksi maserasi. Metode penelitian untuk aktivitas antibakteri ini menggunakan metode difusi cakram. Kertas cakram berisi agen antimikroba ekstrak metanol propolis diletakan pada media agar MHA (*Mueller Hinton Agar*) yang sebelumnya telah ditanami oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, kertas cakram yang telah direndam di dalam agen antimikroba dari esktrak metanol propolis akan berdifusi pada media agar MHA. Hasil uji antibakteri pada *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dengan berbagai konsentrasi didapatkan zona hambat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

**Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi**
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
*Volume 11, Issue 2, December 2023; Page, 1933-1945*
*Email: bioscientist@undikma.ac.id*

**Tabel 1. Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.**

| Konsentrasi (%) | Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) | SD |
|---|---|---|
| 10 | 7.74 | ± 0.1588 |
| 20 | 8.05 | ± 0.0057 |
| 30 | 9.36 | ± 0.5484 |
| 40 | 10.35 | ± 0.5692 |
| 50 | 12.17 | ± 0.0763 |
| Klindamisin 0.1 | 23.03 | ± 0.0435 |
| DMSO | 0 | 0 |

Berdasarkan Tabel 1, dapat dilihat bahwa konsentrasi ekstrak metanol propolis yang memiliki diameter zona hambat terbesar terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, yaitu konsentrasi 50% yang memiliki rata-rata diameter daya hambat sebesar 12,17 mm dan konsentrasi terkecil pada 10%, yaitu sebesar 7,74 mm.

**Tabel 2. Zona Hambat *Staphylococcus aureus*.**

| Konsentrasi (%) | Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) | SD |
|---|---|---|
| 10 | 6.72 | ± 0.5288 |
| 20 | 7.38 | ± 0.5346 |
| 30 | 10.10 | ± 0.0873 |
| 40 | 11.16 | ± 0.0288 |
| 50 | 12.11 | ± 0.0763 |
| Klindamisin 0.1 | 23.07 | ± 0.0929 |
| DMSO | 0 | 0 |

Berdasarkan Tabel 2, dapat dilihat ekstrak metanol propolis juga memiliki diameter zona hambat terbesar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, yaitu pada konsentrasi 50% yang memiliki rata-rata diameter daya hambat sebesar 12,11 mm dan konsentrasi terkecil pada 10%, yaitu sebesar 6,72 mm. Kategori kekuatan daya antibakteri menurut Husain *et al.* (2020), zona hambat >12 mm termasuk sangat kuat, zona hambat 8-12 termasuk kuat, zona hambat 4-8 mm sedang, dan zona hambat <4 mm lemah. Sehingga zona hambat yang terbentuk dari ekstrak metanol propolis terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dapat diklasifikasikan dengan tergolong lemah pada konsentrasi 10% dan tergolong sedang pada konsentrasi 50%.

Berdasarkan Tabel 1 dan Tabel 2, menunjukan daya hambat ekstrak metanol propolis terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* pada masing-masing konsentrasi memiliki tingkat sensitivitas yang berbeda-beda. Menurut Saputera *et al.* (2019), semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, maka zona hambat yang dihasilkan juga semakin besar. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian dari masing-masing konsentrasi 10%< 20%< 30%< 40%<50% dengan respon ukuran diameter dari zona hambat yang berturut-turut semakin besar.

Berdasarkan pada hal tersebut, maka ekstrak metanol propolis memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab infeksi. Hal ini sesuai pada penelitian sebelumnya oleh Jamaluddin *et al.* (2019), bahwa propolis dari lebah (*Heterotrigona itama*) dari Brunei Darussalam memiliki aktivitas antibakteri dari ekstrak propolis 20 gram/L terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan

**Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi**
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
*Volume 11, Issue 2, December 2023; Page, 1933-1945*
*Email: bioscientist@undikma.ac.id*

*Staphylococcus aureus*. Aktivitas antibakteri diduga karena adanya kandungan senyawa kimia pada ekstrak metanol propolis, menurut Rocha *et al.* (2023), kandungan kimia yang terdapat pada propolis ternyata dapat berbeda antar daerah, tempat propolis sarang lebah serta aktivitas biologisnya, seperti aktivitas antimikroba atau antioksidan. Ekosistem flora di sekitar tempat tinggallah yang mempengaruhi kandungan kimia dari propolis.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, ekstrak metanol propolis memiliki kandungan senyawa alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, fenol, dan kuinon. Alkaloid memiliki mekanisme sebagai antibakteri dengan menghambat komponen penyusun peptidoglikan pada sel, sehingga dinding sel tidak utuh dan menyebabkan kematian sel (Riyanto *et al.*, 2019). Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri adalah dengan menghambat berbagai sintase yang terlibat dalam sintesis asam nukleat yang dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel dan rantai pernapasan bakteri (Yuan *et al.*, 2021).

Mekanisme tanin sebagai antibakteri adalah mengganggu peptidoglikan, sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna yang merupakan komponen penting dalam dinding sel bakteri (Villanueva *et al.*, 2023). sedangkan mekanisme kerja saponin adalah dengan merusak dinding dan membran sel bakteri yang menyebabkan pelepasan isi sel dan akhirnya terjadi kematian sel (Cankaya & Somuncuoglu, 2021). Mekanisme kerja fenol dengan konsentrasi tinggi sebagai antibakteri, yaitu dengan menembus dan menganggu dinding sel bakteri dan mempresipitasi protein dalam sel bakteri. Fenol dalam konsentrasi yang lebih rendah menginaktifkan sistem enzim penting dalam sel bakteri (Purwatiningsih *et al.*, 2014). Mekanisme kerja kuinon sebagai antibakteri, yaitu dengan cara membentuk senyawa yang kompleks yang memiliki sifat *irreversible* dengan residu asam amino nukleofilik pada protein transmembran plasma, polipeptida dinding sel, serta enzim-enzim yang terdapat pada permukaan membran sel, sehingga mengganggu kehidupan sel bakteri (Sapara *et al.*, 2016).

Hasil uji statistik menggunakan SPSS menunjukan data yang diuji menggunakan uji *Kolmogorov Smirnov* berdistribusi normal pada uji normalitas, yaitu dengan nilai signifikasi ($p > 0,05$). Pada uji normalitas, data *Pseudomonas aeruginosa* menunjukan nilai signifikasi sebesar 0,810 sedangkan pada *Staphylococcus aureus* nilai signifikasi sebesar 0,895. Uji normalitas dengan data yang berdistribusi normal merupakan syarat untuk dilakukannya uji selanjutnya pada *One Way* ANOVA.

Uji homogenitas varians pada data penelitian ini menunjukan data yang homogen dengan masing-masing nilai signifikasi pada data *Pseudomonas aeruginosa* ($p > 0,005$) $p = 0,054$ dan nilai signifikasi pada data *Staphylococcus aureus* menunjukan $p= 0,081$. Uji homogenitas dengan data yang homogen merupakan salah satu syarat untuk dilakukannya uji *One Way Anova*. Pada hasil uji *One Way Anova* menunjukan pada masing-masing data penelitian dari *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphyloccus aerus* dengan masing-masing nilai signifikasi ($p < 0,05$) yaitu $p = 0,000$ yang artinya tidak terdapat kesamaan pada masing-masing kelompok perlakuan atau masing-masing konsentrasi. Hal ini sesuai dengan hipotesis bahwa terdapat perbedaan efektivitas daya antibakteri dari

**Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi**
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
*Volume 11, Issue 2, December 2023; Page, 1933-1945*
*Email: bioscientist@undikma.ac.id*

ekstrak metanol propolis dari masing-masing konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* LSD yang menunjukan aktivitas antibakteri propolis terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terdapat perbedaan yang nyata pada semua konsentrasi, serta terdapat perbedaan yang nyata antara aktivitas antibakteri ekstrak propolis dengan kontrol positif klindamisin. Pada bakteri *Staphylococcus aureus* tidak terdapat perbedaan zona hambat yang nyata antara konsentrasi 10% dan 20%, 30% dan 40%. Zona hambat dari semua konsentrasi ekstrak propolis berbeda nyata dengan kontrol positif klindamisin.

**KHM dan KBM**

Penentuan KHM (Konsentrasi Hambat Minimal) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimal) menggunakan metode dilusi padat, karena pada metode ini mempunyai keuntungan, yaitu lebih praktis karena satu konsentrasi agen antimikroba uji dapat digunakan untuk menguji lebih dari satu mikroba uji (Supomo *et al.*, 2021). Pengujian KHM dan KBM ini bertujuan untuk mengetahui jumlah dosis dari ekstrak metanol propolis yang dapat menghambat dan membunuh bakteri penyebab infeksi.

Menurut Nadhilla (2014), berdasarkan aktivitasnya zat antibakteri dibedakan menjadi dua, yaitu bakteriostatik dan bakterisida. Antibakteri yang memiliki aktivitas bakteriostatik, yaitu zat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan bakterisida, yaitu zat yang dapat membunuh bakteri. Variasi konsentrasi uji ekstrak metanol propolis adalah 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%.

Masing-masing dari konsentrasi tersebut dilarutkan dengan pelarut organik yang tidak memiliki aktivitas antibakteri, digunakan DMSO guna melarutkan ekstrak metanol propolis. Setelah ekstrak larut, dibuatlah campuran antara ekstrak dengan suspensi bakteri perbandingan (1:1). Diambil 1 mL ekstrak metanol propolis yang telah dilarutkan dengan DMSO lalu ditambahkan dengan 1 mL suspensi bakteri. Dituang campuran ekstrak metanol propolis dengan suspensi secara *pour plate* ke dalam cawan petri yang telah disterilkan terlebih dahulu, lalu dituangkan media MHA yang sudah agak dingin ke dalam cawan dan dihomogenkan dengan cara digeser perlahan membentuk angka delapan. Setelah homogen dan media memadat, diinkubasi selama 1x24 jam dengan suhu 37°C. Didapatkan hasil dari inkubasi selama 24 jam dan ditetapkan sebagai KHM.

**Tabel 3. Pertumbuhan Bakteri Setelah 1 x 24 Jam.**

| Konsentrasi (%) | Bakteri | |
|---|---|---|
| | ***Pseudomonas aeruginosa*** | ***Staphylococcus aureus*** |
| 10 | - | - |
| 20 | - | - |
| 30 | - | - |
| 40 | - | - |
| 50 | - | - |

**Keterangan:**
(-) = Tidak ada pertumbuhan bakteri; dan
(+) = Ada pertumbuhan bakteri.

**Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi**
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
*Volume 11, Issue 2, December 2023; Page, 1933-1945*
*Email: bioscientist@undikma.ac.id*

Berdasarkan hasil inkubasi pertama, tidak terdapat pertumbuhan bakteri disemua konsentrasi. KHM adalah konsentrasi terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, dengan demikian konsentrasi terkecil adalah 10% dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukan KHM dari esktrak metanol propolis untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* (b/v) adalah 100 mg/mL. Untuk selanjutnya dilakukan uji penegasan dengan melakukan *streak* ulang pada media dengan suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* lalu diinkubasi kembali selama 1x24 jam pada suhu 37°C.

**Tabel 4. Pertumbuhan Bakteri Setelah 1 x 24 Jam.**

| Konsentrasi (%) | Bakteri | |
|---|---|---|
| | *Pseudomonas aeruginosa* | *Staphylococcus aureus* |
| 10 | - | - |
| 20 | - | - |
| 30 | - | - |
| 40 | - | - |
| 50 | - | - |

**Keterangan:**
(-) = Tidak ada pertumbuhan bakteri; dan
(+) = Ada pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan Tabel 4, bahwa setelah di*streak* ulang, media tetap bening atau tidak ada pertumbuhan bakteri di semua variasi konsentrasi, maka KBM adalah konsentrasi minimal yang dapat membunuh bakteri terdapat pada konsentrasi 10% atau jika dalam (b/v) adalah 100 mg/mL.

## SIMPULAN

Berdasarkan kesimpulan ekstrak metanol propolis lebah *Heterotrigona itama* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 10%:7,74 mm, 20%:8,05 mm, 30%:10,00 mm, 40%:10,05 mm, dan 50%:12,25 mm, serta dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 10%:7,05 mm, 20%:8,00 mm, 30%:10,20 mm, 40%:11,15 mm, dan 50%:12,05 mm. KHM dan KBM ekstrak metanol propolis pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* sebesar 100 mg/mL.

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan berbagai fraksi dari ekstrak propolis lebah *Heterotrigona itama* terhadap bakteri patogen lainnya.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih terutama ditujukan kepada Bapak apt. Supomo, S.Si., M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda sekaligus selaku Pembimbing I yang telah banyak memberikan arahan, bimbingan, dukungan motivasi, dan saran yang sangat berharga. Ibu apt. Husnul Warnida, M.Si., selaku Pembimbing II yang telah membimbing dalam menulis artikel ini. Bapak dan Ibu

dosen, serta Staf Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda yang telah bersedia mendidik dan membimbing.

## DAFTAR RUJUKAN

Achyani., & Wicandra, D. (2019). *Kiat Praktis Budidaya Lebah Trigona (Heterotrigona itama)*. Lampung: CV. Laduny Alifatama.

Anisa, N., & Najib, S. Z. (2022). *Skrining* Fitokimia dan Penetapan Kadar Total Fenol Flavonoid dan Tanin pada Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Indonesian Journal Pharmaceutical and Herbal Medicine, 2*(1), 96-104.

Campos, J. F., dos Santos, U. P., da Rocha, P. d. S., Damião, M. J., Balestieri, J. B. P., Cardoso, C. A. L., Gamero, E. J. P., Estevinho, L. M., Souza, K. d. P., & dos Santos, E. L. (2015). Antimicrobial, Antioxidant, Antiinflammatory, and Cytotoxic Activities of Propolis from the Stingless Bee *Tetragonisca fiebrigi* (jataí). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine,* (2015), 1-11. https://doi.org/10.1155/2015/296186

Cankaya, I. I. T., & Somuncuoglu, E. I. (2021). Review Article : Potential and Prophylactic Use of Plants Containing Saponin-Type Compounds as Antibiofilm Agents Against Respiratory Tract Infections. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine,* (2021), 1-14. https://doi.org/10.1155/2021/6814215

de Farias, J. H. C., Reis, A. S., Araújo, M. A. R., Araújo, M. J. A. M., Assunção, A. K. M., de Farias, J. C., Fialho, E. M. S., Silva, L. A., Costa, G. C., Guerra, R. N. M., Ribeiro, M. N. S., & do Nascimento, F. R. F. (2014) Effects of Stingless Bee Propolis on Experimental Asthma. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine,* (2014). 1-8. https://doi.org/10.1155/2014/951478

Ekawati, R. A., Husnul, S. N., & Herawati, D. (2018). Identifikasi Kuman pada Pus dari Luka Infeksi Kulit. *Jurnal Sains Health, 2*(1). 31-35. https://doi.org/10.51804/jsh.v2i1.174.31-35

Francoy, T. M., Silva, R. A. O., & Nunes, S. P. (2019). Gen-der Identification of Five Genera of Stingless Bees *(Apidae, Meliponini*) Based on Wing morphology Genet. *Genetics and Molecular Research, 8*(1), 207-214. http://doi.org/10.4238/vol8-1gmr557

Grumezescu, A. M., & Holban, A. M. (2018). *Therapeutic Probiotic Unconventional Food*. Cambridge: Academic Press.

Handayani, F., Apriliana, A., & Natalia, H. (2019). Karakterisasi dan *Skrining* Fitokimia Simplisia Daun Selutui Puka (*Tabernaemontana macracarpa* Jack). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina, 4*(1), 49-58. https://doi.org/10.36387/jiis.v4i1.285

Hermalinda, R., Taufiqurrahman, I., & Helmi, Z. N. (2019). Total Flavonoid Content Analysis of Ramania Leaves Extract Using Ethanol, Methanol and N-Hexane as Solvents. *Dentino : Journal Kedokteran Gigi, 4*(1), 60-63.

Husain, D. R., Gunawan, S., & Sulfahri, S. (2020). Antimicrobial Potential of Lactic Acid Bacteria from Domestic Chickens (*Gallus domesticus*) from South Celebes, Indonesia, in Different Growth Phases : In Vitro

Experiments Supported By Computational Docking. *Iranian Journal of Microbiology, 12* (1), 62-69.

Ismarani, D., Pratiwi, L., & Kusharyanti, I. (2016). Formulasi Gel Pacar Air (*Impatiens balsamina* Lim.) terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Pharmaceutical Sciences and Research, 1*(1), 30-45. https://doi.org/10.7454/psr.v1i1.3504

Jamaluddin, A. W., Mursalim, M. F., & Apada, A. M. S. (2019). Combination of Propolis Extract (*Trigona* Sp) and Ginger Rhizome (*Zingiber officinale* Roscoe) as Alternative Antibiotics Against *Escherichia coli* In Vitro. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 6*(3), 112-117. https://doi.org/10.24198/ijpst.v6i3.20831

Jannah, H., & Safnowandi. (2018). Identifikasi Jenis Tumbuhan Obat di Kawasan Desa Batu Mekar Kecamatan Lingsar Kabupaten Lombok Barat. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi, 6*(1), 1-15. https://doi.org/10.33394/bioscientist.v6i1.938

Lestari, F., & Andriani, S. (2020). Fitokimia Tumbuhan Berkhasiat Obat Tradisional di Kalimantan Selatan dan Kalimantan Tengah. *Jurnal Galam, 1*(2). 79-92. http://doi.org/10.20886/GLM.2021.1.2.79-92

Lopes, A. J. O., Vasconcelos, C. C., Pereira, F. A. N., Silva, R. H. M., Queiroz, P. F. d. S., Fernandes, C. V., Garcia, J. B. S., Ramos, R. M., da Rocha, C. Q., Lima, S. T. d. J. R. M., Cartágenes, M. d. S. d. S., & Ribeiro, M. N. d. S. (2019). Anti Inflammatory and Activity and Antinociceptive Activity of Pollen Extract Collected by Stingless Bee *Melipona fasciculata*. *International Journal of Moleculer Science, 20*(4). 1-20. http://doi.org/10.3390/ijms20184512

Lutpiatina, L. (2015). Efektivitas Ekstrak Propolis Lebah Kelutut (*Trigona* spp) dalam Menghambat Pertumbuhan *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*. *Jurnal Skala Kesehatan, 6*(1), 6-13. https://doi.org/10.31964/jsk.v6i1.32

Mardiah. (2017). Uji Resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap Antibiotik, Amoxillin, Tetracyclin, dan Propolis. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan, 8*(2), 1-6. https://doi.org/10.20956/jal.v8i16.2978

Mayangsari, A. (2013). Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Propolis Lawang terhadap *Fusobacterium nucleatum*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya.

Murtiwi, M. T. (2014). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun (*Macaranga tanarius* (L.) Mull. Arg.) terhadap (*Streptococcus pyogenes*) ATCC 19615. *Skripsi*. Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.

Nadhilla, N. F. (2014). The Activity of Antibacterial Agent of Honey Against *Staphylococcus aureus*. *Medical Journal of Lampung University, 3*(7), 94-101.

Nafisah, M., Tukiran., Suyatno., & Nurul, H. (2014) Uji Skrining Fitokimia pada Ekstrak Heksan, Kloroform, dan Metanol dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*). In *Prosiding Seminar Nasional Kimia* (pp. 279-286). Surabaya, Indonesia: Universitas Negeri Surabaya.

Ningsih, A. P., Nurmiati., & Agustien, A. (2013). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kental Tanaman Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas, 2*(3), 207-213. https://doi.org/10.25077/jbioua.2.3.%25p.2013

Pratiwi, R. H. (2017). Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen terhadap Antibiotik. *Jurnal Pro-Life, 4*(3), 418-429. https://doi.org/10.33541/jpvol6Iss2pp102

Pujirahayu, N., Ritonga, H., & Uslinawaty, Z. (2014). Properties and Flavonoids Content in Propolis of Some Extraction Method of Raw Propolis. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 6*(6), 338-340.

Purwatiningsih, T. I., Yustina, Y. S., & Widodo. (2014). Aktivitas Senyawa Fenol dalam Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebagai Antibakteri Alami untuk Bakteri penyebab Mastitis. *Buletin Peternakan, 38*(1), 59-64. https://doi.org/10.21059/buletinpeternak.v38i1.4618

Rismawati, S. N., & Ismiyati. (2017). Pengaruh Variasi PH terhadap Kadar Flavonoid pada Ekstraksi Propolis dan Karakteristiknya sebagai Antimikroba. *Jurnal Konversi, 6*(2), 89-94. https://doi.org/10.24853/konversi.6.2.89-94

Riyanto, E. F., Nurjanah, A. N., Ismi, S. N., & Suhartati, R. (2019). Daya Hambat Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L) terhadap Bakteri Perusak Pangan. *Jurnal Kesehatan, 19*(2), 218-225. http://doi.org/10.36465/jkbth.v19i2.500

Rocha, V. M., Portela, R. D., Anjos, J. P. D., Souza, C. O. D., & Guez, M. A. U. (2023). Stingless Bee Propolis : Composition, Biological Activities and its Applications in the Food Industry. *Food Production, Processing and Nutrition, 5*(1), 1-13. https://doi.org/10.1186/s43014-023-00146-z

Rosyidi, D., Radiati, E. L., Minarti, S., Mustakim, M., Susilo, A., Jaya, F., & Azis, A. (2018). Perbandingan Sifat Antioksidan Propolis pada Dua Jenis Lebah (*Apis mellifera* dan *Trigona* sp.) di Mojokerto dan Batu Jawa Timur Indonesia. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak, 13*(2), 108-117. https://doi.org/10.21776/ub.jitek.2018.013.02.5

Sapara, T. U., Waworuntu, O., & Juliatri. (2016). Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Jurnal Ilmiah Pharmacon, 5*(4), 10-17. https://doi.org/10.35799/pha.5.2016.13968

Saputera, M. M. A., Marpaung, T. W. A., & Ayuchecaria, N. (2019). Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Ekstrak Etanol Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis Hassk*) terhadap Bakteri *Escherichia coli* melalui Metode Sumuran. *Jurnal Ilmiah Manuntung : Sains, Farmasi, dan Kesehatan, 5*(2), 167-173. https://doi.org/10.51352/jim.v5i2.267

Supomo., Sa'adah, H., Syamsul, E. S., Kintoko., Witasari, H. A., & Noorcahyati. (2021). *Khasiat Tumbuhan Akar Kuning Berbasis Bukti*. Makassar: Media Pustaka.

Syafrizal., Hariani, N., & Budiman. (2016). Analisis Fitokimia, Toksisitas dan Antioksidan Ekstrak Serbuk Sari (*Bee pollen*) Lebah *Trigona* spp. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceutical* (pp. 408-416). Samarinda, Indonesia: Universitas Mulawarman.

Utami, E. R., & Rosa, Y. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryfolius*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal kesehatan : Jurnal Ilmiah Multi Sciences, 11*(1), 61-71. https://doi.org/10.52395/jkjims.v11i01.324

Villanueva, X., Zhen, L., Ares, J. N., Vackier, T., Lange, H., Crestini, C., & Steenackers, H. P. (2023). Effect of Vhemical Modifications of Tannins on Their Antimicrobial and Antibiofilm Effect Against Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *Frontiers in Microbiology, 13*(1), 1-15. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.987164

Walsh, T. R., Efthimiou, J., & Dréno, B. (2016). Systematic Review of Antibiotic Resistance in Acne an Increasing Topical and Oral Threat. The *Lancet Infectious Diseases, 16*(3). 23-33. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00527-7

Wardaniati, I., & Gusmawarni, V. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Propolis terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal Farmasi Higea, 13*(2), 115-123. http://dx.doi.org/10.52689/higea.v13i2.372

Yuan, G., Guan, Y., Yi, H., Lai, S., Sun, Y., & Cao, S. (2021). Antibacterial Activity and Mechanism of Plant Flavonoids to Gram-Positive Bacteria Predicted from Their Lipophilicities. *Scientific Reports, 11*(1), 1-15. http://doi.org/10.1038/s41598-021-90035-7

Yusop, S. A. T. W., Asaruddin, M. R., Sukairi, A. H., & Sabri, W. M. A. W. (2018). Cytotoxicity and Antimicrobial Activity of Propolis from *Trogina itama* Stingless Bees against *Staphlococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical, 1*(1), 13-20. https://doi.org/10.24198/ijpst.v1i1.16118