

BAB VI

PEMBAHASAN

Madu dan propolis merupakan produk dari lebah yang telah dikenal akan manfaatnya bagi kesehatan manusia dan telah digunakan sebagai salah satu obat tradisional sejak dahulu. Penelitian-penelitian beberapa dekade terakhir menunjukkan bahwa madu mempunyai manfaat yang sangat beragam, mulai dari sebagai antimikroba, antivirus, antiparasit, antioksidan, antimutagenik, antitumor, dan anti-inflamasi (Bogdanov, 2008). Begitu pula dengan propolis, berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa propolis mempunyai efek antibakteri, antitumor, antikanker, anti-inflamasi, antioksidan dan *hepatoprotective* (Toreti et al., 2013). Sebagai bahan antibakteri madu dan propolis telah dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan dari beberapa bakteri baik bakteri gram positif maupun gram negatif (Mandal et al., 2011; Chamandi et al., 2015).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan efektivitas madu dan propolis lebah *Apis mellifera* sebagai antimikroba terhadap bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Data hasil penelitian ini diperoleh dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri MRSA yang tumbuh setelah dilakukan *streaking* pada permukaan agar *Mueller Hinton* yang telah dicampur madu dan propolis dalam 6 konsentrasi berbeda. Konsentrasi madu yang digunakan adalah konsentrasi 5%, 6%, 7%, 8%, 9% dan 10%, sedangkan konsentrasi propolis yang digunakan adalah konsentrasi 1,0%, 1,2%, 1,4%,

1,6%, 1,8%, dan 2,0%. Selain itu terdapat pula kelompok kontrol dimana agar *Mueller Hinton* tidak dicampur madu maupun propolis (konsentrasi) 0%). Perbandingan efektivitas dilihat melalui nilai konsentrasi efektif yang dapat menghambat pertumbuhan koloni bakteri MRSA.

Hasil perhitungan koloni MRSA yang tumbuh pada permukaan agar menunjukkan bahwa rata-rata jumlah bakteri yang tumbuh pada kelompok kontrol (konsentrasi 0%) adalah sebesar $1,4 \times 10^6$ CFU/ml. Pada kelompok madu rata-rata jumlah koloni yang terbentuk pada konsentrasi 5% adalah sebanyak $7,1 \times 10^5$ CFU/ml, kelompok konsentrasi 6% sebanyak $2,8 \times 10^5$ CFU/ml, kelompok konsentrasi 7% sebanyak $7,7 \times 10^4$ CFU/ml, kelompok konsentrasi 8%, sebanyak $4,7 \times 10^4$ CFU/ml, kelompok konsentrasi 9% sebesar $1,2 \times 10^4$ CFU/ml, dan pada kelompok konsentrasi 10% sudah tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri. Pada kelompok propolis rata-rata jumlah koloni yang terbentuk pada konsentrasi 1,0% adalah sebanyak $6,5 \times 10^5$ CFU/ml, kelompok konsentrasi 1,2%, sebesar $3,7 \times 10^5$ CFU/ml, kelompok konsentrasi 1,4% sebanyak $1,8 \times 10^5$ CFU/ml, kelompok konsentrasi 1,6%, sebanyak $4,3 \times 10^4$ CFU/ml, dan pada propolis konsentrasi 1,8% dan 2,0% sudah tidak didapatkan pertumbuhan bakteri. Berdasarkan data tersebut di atas, madu dan propolis yang diuji menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri MRSA. Konsentrasi madu dan propolis lebah *Apis mellifera* yang secara efektif dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA pada penelitian ini secara berurutan adalah 10% dan 1,8%.

Hasil penelitian ini mendukung penelitian-penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa madu mempunyai efek antibakteri terhadap bakteri MRSA. Chauhan dan Desai (2012), dalam penelitiannya menguji efek antibakteri madu

hutan Neem di India terhadap 52 isolat bakteri MRSA yang diperoleh dari distrik Valsad di Gujarat, India dengan menggunakan metode dilusi tabung. Hasilnya didapatkan konsentrasi terendah dimana madu dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA adalah sebesar 30%. Penelitian lain yang dilakukan Al-Haj *et al.* (2009) menguji efek antibakteri madu pohon pinus terhadap isolat bakteri MRSA dari beberapa rumah sakit di Malaysia dengan menggunakan metode dilusi agar. Hasilnya diperoleh konsentrasi terendah dimana tidak didapatkan lagi pertumbuhan bakteri MRSA adalah sebesar 25%. Sedangkan pada penelitian ini madu yang digunakan adalah madu multiflora yang berasal dari lebah *Apis mellifera* dari produsen Madu Pramuka Cibubur dan isolat bakteri MRSA yang digunakan adalah stok isolat bakteri MRSA di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Hasilnya konsentrasi madu yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA lebih rendah daripada dua penelitian sebelumnya, yaitu sebesar 10%. Hal ini kemungkinan disebabkan karena perbedaan jenis madu yang digunakan, perbedaan tingkat resistensi bakteri MRSA, dan perbedaan metode uji antimikroba yang digunakan.

Hasil pengujian antimikroba propolis lebah *Apis mellifera* pada penelitian ini juga sejalan dengan hasil penelitian-penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa propolis mempunyai efek antibakteri terhadap bakteri MRSA. Rahman *et al.* (2010) dalam penelitiannya menggunakan propolis dari Canada memperoleh hasil bahwa propolis tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada pengenceran $\frac{1}{4}$ (2,74 mg/ml). Penelitian lain dilakukan oleh Fernandez *et al.* (2001) untuk membandingkan efek antibakteri beberapa macam propolis dari Brazil terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasilnya propolis *Apis mellifera* dapat menghambat bakteri tersebut pada

konsentrasi 0,3 % (0,38 mg/ml). Pada penelitian ini konsentrasi efektif propolis *Apis mellifera* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA adalah 1,8% (0,18 ml propolis cair). Perbedaan hasil tersebut kemungkinan disebabkan karena perbedaan jenis propolis yang digunakan, cara pengekstrakkan, perbedaan tingkat resistensi bakteri MRSA, dan perbedaan metode uji antimikroba yang digunakan.

Efek antibakteri yang dimiliki oleh madu terbentuk karena adanya beberapa faktor. Pertama madu memiliki tekanan osmosis yang tinggi. Hal ini dikarenakan madu memiliki konsentrasi gula yang tinggi dan komponen air yang rendah. Akibatnya sangat sedikit molekul air tersedia untuk mikroorganisme. Mikroorganisme akan cenderung kehilangan air dari proses osmosis ini dan akan mengalami dehidrasi sehingga dapat membunuh mikroorganisme tersebut (Kwakman dan Zaat, 2012; Nadhilla, 2014). Kedua, madu mempunyai pH yang rendah berkisar antara 3,2-4,5. Keasaman dari madu ini terbentuk karena adanya asam-asam organik penyusunnya. Keadaan pH yang rendah tersebut tidak memungkinkan adanya pertumbuhan pada sebagian besar bakteri (Vallianou *et al.*, 2014). Ketiga, di dalam madu terdapat hidrogen peroksida yang bertindak sebagai oksidan dengan memproduksi radikal bebas hidroksil (OH) yang mengganggu komponen penting sel bakteri, termasuk lipid, protein dan DNA (McDonnell dan Russell, 1999). Keempat, madu mengandung senyawa flavonoid yang berupa flavonone pinocembrin, flavonol galangin, dan *caffeic acid phenyl ester* (CAPE) yang dapat menghambat polymerase RNA bakteri dan mendegradasi membran sitoplasma bakteri, sehingga menyebabkan hilangnya ion kalium dan berujung pada *autolysis* sel. Selain itu, flavonoid jenis lain yang juga dimiliki madu adalah quercetin yang dapat meningkatkan permeabilitas

membran dan menghilangkan potensial membran, sehingga berujung pada hilangnya kapasitas produksi ATP, *transport* membran, dan motilitas bakteri (Boukraa *et al.*, 2013).

Berbeda dengan madu yang memiliki beberapa faktor yang berkontribusi dalam membentuk sifat antibakteri, mekanisme antimikroba propolis banyak dipengaruhi senyawa flavonoid yang terkandung di dalamnya. Flavonoid mempunyai sifat sebagai koagulan protein sebagaimana sifat fenol. Flavonoid dapat menyebabkan denaturasi protein asam nukleat bakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks melalui ikatan hidrogen sehingga struktur tersier protein terganggu dan protein tidak dapat berfungsi lagi. Denaturasi protein tersebut selanjutnya akan mengganggu metabolisme dan fungsi fisiologis bakteri. Akibatnya akan terjadi kerusakan sel bakteri secara permanen karena karena kebutuhan energi tidak tercukupi oleh proses metabolisme yang terganggu dan akhirnya menyebabkan sel lisis. Selain itu flavonoid juga dapat menyebabkan gangguan fungsi pompa $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ yang menyebabkan sodium tertahan dalam sel. Hal ini menyebabkan kepolaran plasma sel berubah dan terjadi osmosis cairan ke dalam sel. Sel bakteri akan membengkak dan akhirnya pecah (Santoso, 2012). Senyawa flavonoid dalam propolis yang paling poten sebagai senyawa *microbicidal* antara lain flavonone pinocembrine, analog flavonol galangin, asam cafeat dan esternya, terpenoid dan chrysin (Kumar dan Pandey, 2013).

Menurut Molan dan Cooper (2000), daya antibakteri dari madu berbeda antara satu madu dengan madu jenis lainnya. Perbedaan tersebut dipengaruhi oleh letak geografis, musim dan sumber tanaman serta kondisi pemanenan, pemrosesan, dan penyimpanan (Mandal *et al.*, 2011). Begitu juga dengan propolis, senyawa kimia antibakteri yang dimiliki propolis dipengaruhi oleh

musim, pencahayaan, ketinggian tempat, tipe lebah, dan ketersediaan sumber pangan lebah (Toreti *et al.*, 2013). Oleh karena itu madu dan propolis yang berasal dari lebah dan tempat yang berbeda akan memiliki daya antibakteri yang berbeda. Akibatnya konsentrasi madu dan propolis yang dibutuhkan untuk menghambat bakteri tertentu juga akan berbeda pada masing-masing jenis madu dan propolis.

Dari penelitian ini didapatkan bahwa madu dan propolis lebah *Apis mellifera* memiliki daya anti bakteri yang berbeda terhadap bakteri MRSA. Madu *Apis mellifera* dapat menghambat bakteri MRSA pada konsentrasi 10% (1ml), sedangkan propolis *Apis mellifera* dapat menghambat bakteri MRSA pada konsentrasi 1,8% (0,18 ml). Dalam pemanfaatannya sebagai bahan antimikroba, madu dan propolis memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing. Dalam hal konsentrasi, propolis lebih unggul daripada madu karena propolis memerlukan jumlah yang lebih sedikit dalam menghambat bakteri MRSA. Akan tetapi, saat ini penggunaan propolis di Indonesia masih kalah populer dibandingkan dengan madu. Hal ini dikarenakan tidak semua peternak lebah memproduksi propolis. Saat ini masih banyak peternak lebah di Indonesia yang belum mengetahui khasiat dari propolis, sehingga seringkali propolis dibuang dari sarang lebah karena dianggap sebagai kotoran akibat dari warna propolis yang hitam dan cenderung lengket. Selain itu dalam segi harga propolis memiliki harga yang jauh lebih mahal daripada madu. Di sisi lain madu lebih mudah didapatkan di pasaran karena khasiat madu telah banyak diketahui masyarakat Indonesia dan harganya yang lebih terjangkau, namun dalam pemanfaatannya sebagai antibakteri madu membutuhkan konsentrasi yang lebih tinggi daripada propolis. Propolis diketahui memiliki kandungan pollen di dalamnya, sedangkan madu

meskipun tidak memiliki kandungan pollen, namun tidak menutup kemungkinan adanya kontaminasi pollen selama proses pemanenan dan ekstraksi madu. Hal ini perlu diperhatikan karena pollen merupakan salah satu bahan yang dapat memicu alergi.

Dalam pelaksanaannya penelitian ini masih terdapat beberapa kekurangan diantaranya adalah metode penelitian yang digunakan belum dapat digunakan untuk menentukan kadar bunuh minimum (KBM) dari madu dan propolis terhadap bakteri MRSA. Hal ini dikarenakan metode yang digunakan hanya memungkinkan untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM). Untuk menentukan KBM dari suatu bahan antimikroba perlu dilakukan uji dengan menggunakan metode dilusi tabung. Pada penelitian ini metode dilusi tabung tidak bisa diterapkan karena warna propolis yang digunakan cukup keruh sehingga tidak memungkinkan untuk mengamati perbedaan kekeruhan antar konsentrasi pada dilusi tabung. Kekurangan yang kedua adalah propolis yang digunakan bukan propolis yang diekstrak sendiri oleh peneliti, sehingga tidak diketahui proses ekstraksi yang digunakan. Selain itu perbedaan efektivitas antibakteri antara madu dan propolis juga belum bisa dibuktikan berbeda secara statistik. Selanjutnya untuk mengetahui lebih jauh efek antibakteri madu dan propolis, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui kadar bunuh minimum, tingkat toksisitas dan efek samping dari madu dan propolis lebah *Apis mellifera*.