

**SKRIPSI**

**EFEKTIFITAS PEMBERIAN PROPOLIS LEBAH  
DAN ROYAL JELLY TERHADAP ABSES  
YANG DISEBABKAN *Staphylococcus aureus***



OLEH :

*Rahendra Drasetya Eko Sudarsono*

LAMONGAN - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
S U R A B A Y A  
1 9 9 8**

**EFEKTIFITAS PEMBERIAN PROPOLIS LEBAH DAN ROYAL JELLY  
TERHADAP ABSES YANG DISEBABKAN  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

RAHENDRA PRASETYA EKO SUDARSONO

NIM 069311991

Menyetujui,

Komisi Pembimbing,



---

( Nanik Sianita, S.U., drh.)

Pembimbing pertama



---

( Didik Handijatno, M.S., drh. )

Pembimbing kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

Menyetujui,  
Panitia Penguji



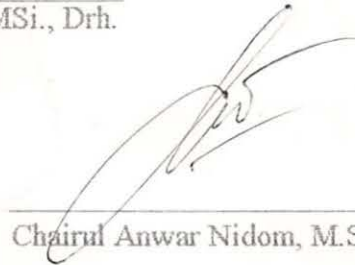
Nenny Harijani, MSi., Drh.

Ketua



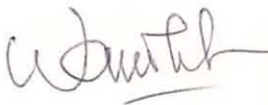
Djoko Galiono, M.S., Drh.

Sekretaris



Chairul Anwar Nidom, M.S., Drh.

Anggota



Nanik Sianita, S.U., Drh.

Anggota



Didik Handijatno, M.S., Drh.

Anggota

Surabaya, 9 September 1998

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan



Dr. Ismudiono, M.S., Drh.

**EFEKTIFITAS PEMBERIAN PROPOLIS LEBAH DAN ROYAL JELLY  
TERHADAP ABSSES YANG DISEBABKAN  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

**RAHENDRA PRASETYA EKO SUDARSONO**

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat propolis lebah dan royal jelly terhadap pertumbuhan *S. aureus* secara *in vitro* dan lama waktu penyembuhan abses yang disebabkan *S. aureus* dengan pemberian propolis lebah dan royal jelly.

Penelitian ini menggunakan dua tahap yaitu tahap pertama dilakukan penelitian secara *in vitro* dengan menggunakan metode dilusi dan tahap kedua adalah penelitian secara *in vivo*. Terlebih dahulu dilakukan penentuan dosis infeksi ( $ID_{50}$ ) dengan cara Reed dan Muench yang membutuhkan 36 hewan coba marmut. Dosis infeksi *S. aureus* pada marmut yang dapat menimbulkan abses adalah pada pengenceran  $10^{-4}$  dengan jumlah kuman  $1,845 \cdot 10^3$  sel/ml yang akan digunakan untuk menginfeksi hewan coba untuk perlakuan. Penelitian *in vivo* menggunakan 30 ekor hewan coba marmut yang dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan dengan 10 ulangan. Perlakuan tersebut adalah perlakuan A, abses dilakukan tindakan operatif dan diobati dengan propolis lebah. Perlakuan B, abses dilakukan tindakan operatif dan diobati dengan royal jelly. Perlakuan C, abses dilakukan tindakan operatif tanpa diobati. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan data yang diperoleh dianalisis dengan uji F, jika hasilnya berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Hasil penelitian *in vitro* menunjukkan propolis lebah dan royal jelly mempunyai *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) pada konsentrasi 3,125% dan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) yaitu pada konsentrasi 6,25%. Hasil penelitian *in vivo* menunjukkan bahwa lama waktu penyembuhan abses pada perlakuan A adalah  $6,253 \pm 0,38$  hari dan perlakuan B adalah  $7,328 \pm 0,314$  hari yang berbeda sangat nyata dengan perlakuan C yang mempunyai lama waktu penyembuhan abses  $30,289 \pm 1,684$  hari. Dari hasil penelitian ini disimpulkan bahwa propolis lebah dan royal jelly dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* serta dapat menyembuhkan abses yang disebabkan *S. aureus* dalam waktu yang singkat.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga skripsi ini dapat penulis selesaikan dengan baik. Skripsi ini penulis susun guna memenuhi persyaratan dalam memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Skripsi yang merupakan hasil penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas pemberian propolis lebah dan royal jelly terhadap abses yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* pada hewan coba marmut. Sehingga dapat diketahui gambaran tentang potensi produk lebah sebagai obat alternatif.

Banyak pihak yang membantu dalam menyusun skripsi ini, baik langsung maupun tidak langsung. Penulis dengan tulus mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya, khususnya kepada : Bapak Dr. Ismudiono M.S.,Drh sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga beserta stafnya ; Ibu Nanik Sianita S.U., Drh dan Bapak Didik Handijatno M.S., Drh sebagai dosen pembimbing . Tak lupa penulis ucapkan terima kasih kepada Ibunda dan Ayahnda tercinta atas doa restunya serta adik-adik penulis Twida, Ipung, Intan ,dan dik Yoen serta teman-teman Anang, Nanang, Heli yang telah memberikan semangat, dukungan dan doanya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Akhirnya penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna untuk itu kritik dan saran yang sifatnya membangun sangat penulis harapkan. Semoga hasil-hasil yang dituangkan dalam skripsi ini bermanfaat bagi pemngembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang Kedokteran Hewan.

Surabaya, Juli 1998

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
 <b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
I.1. Latar Belakang Masalah.....	1
I.2. Perumusan Masalah.....	4
I.3. Tujuan Penelitian.....	5
I.4. Manfaat Penelitian.....	5
I.5. Landasan Teori.....	5
I.6. Hipotesis Penelitian.....	6
 <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
II.1. Tinjauan Tentang Propolis.....	7
II.1.1. Propolis.....	7
II.1.2. Komposisi Propolis.....	8
II.1.3. Aktifitas Antibakteri Propolis.....	8
II.2. Royal Jelly.....	9
II.2.1. Komposisi Royal Jelly.....	9
II.2.2. Aktivitas Antibakteri Royal Jelly .....	12
II.2.2. Cara Pemberian.....	12
II.3. Tinjauan Tentang Abses.....	12
II.4. Tinjauan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
II.4.1. Etiologi.....	14
II.4.2. Morfologi.....	14

II.4.3. Sifat Pupukan dan Biokimia.....	14
II.4.4. Resistensi.....	15
II.4.5. Struktur Antigenik, Toksin dan Enzim.....	15
II.4.6. Penularan.....	17
II.4.7. Patogenitas dan Gejala Klinis.....	17
<b>BAB III. MATERI DAN METODA PENELITIAN</b>	
III.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
III.2. Materi Penelitian.....	19
III.3. Metode Penelitian.....	20
III.3.1. Persiapan Penelitian.....	20
III.3.2. Pelaksanaan Penelitian.....	21
III.3.2.1. In Vitro.....	21
III.3.2.2. In Vivo.....	22
III.3.3. Parameter yang Diamati.....	25
III.3.4. Rancangan dan Analisis Penelitian.....	26
<b>BAB IV. HASIL PENELITIAN</b>	
IV.1. In Vitro.....	27
IV.2. In Vivo.....	29
<b>BAB V. PEMBAHASAN.....</b>	<b>32</b>
<b>BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>40</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>41</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Kimia Royal jelly.....	10
2. Komposisi Vitamin Royal jelly.....	11
3. Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> akibat Pemberian Propolis lebah dan Royal Jelly pada pengujian MIC .....	27
4. Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> akibat Pemberian Propolis lebah danRoyal Jelly pada pengujian MBC.....	28
5. Perhitungan $ID_{50}$ .....	29
6. Lama Waktu Penyembuhan Abses pada Marmut dengan Pengobatan Propolis lebah dan Royal Jelly.....	30

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan $ID_{50}$ .....	45
2. Pengolahan Data.....	47
3. Pengamatan Lama Waktu Penyembuhan Abses Pada Marmut.....	50
4. Skema Penentuan MIC dan MBC Propolis lebah dan Royal jelly.....	51
5. Skema penentuan $ID_{50}$ .....	52
6. Skema Perlakuan percobaan dengan Tiga Perlakuan.....	53

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Propolis Lebah.....	54
2. Royal Jelly.....	54
3. MBC Propolis.....	55
4. MBC Royal Jelly.....	55
5. Abses buatan akibat infeksi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	56
6. Penyembuhan abses pada hewan coba marmut.....	56

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### L1. Latar Belakang Masalah

Pembangunan kesehatan di Indonesia sudah digariskan secara mantap dalam sistem kesehatan nasional (SKN). Tujuan pembangunan kesehatan adalah tercapainya kemampuan hidup sehat bagi setiap penduduk agar dapat mewujudkan derajat kesehatan masyarakat yang optimal, sebagai salah satu unsur kesejahteraan umum dari tujuan nasional (Anonimus,1993).

Obat merupakan salah satu unsur penting untuk mencapai tujuan-tujuan kesehatan dan disebarluaskan agar penyediaannya makin merata dengan harga yang terjangkau oleh masyarakat luas (Anonimus,1993).

Penyakit yang sering diderita manusia maupun hewan dapat bersifat infeksius dan noninfeksius. Penyakit infeksius dapat disebabkan bakteri, parasit, virus dan jamur. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri sering dijumpai, baik sebagai infeksi primer maupun sekunder.

*Staphylococcosis* adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*, dapat menyerang hewan dan manusia dalam bentuk akut atau kronis dan dapat disertai dengan kejadian septikemia (Merchant dan Packer,1971).

*Staphylococcus aureus* merupakan kuman patogen yang bersifat invasif, akan menyerang induk semang bila terdapat faktor predisposisi seperti trauma, adanya luka pada kulit/mukosa atau infeksi sekunder pada kejadian penyakit lain (Merchant dan Packer, 1971; Cottral, 1978).

*Staphylococcus aureus* pada manusia sebagai penyebab dari osteomyelitis, sinusitis, tonsilitis, endokarditis dan keratitis ulceratif Pada hewan dapat menyebabkan mastitis, dermatitis pustular dan abses (Merchant dan Packer, 1971).

Antibiotika merupakan suatu jenis obat yang sangat penting artinya dalam penanggulangan penyakit pada manusia maupun hewan. Sejak pertama kali diketahui manfaatnya sebagai obat sampai saat ini telah banyak jenis antibiotika yang dibuat dan dipakai untuk menyembuhkan berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Morbiditas penyakit infeksi di Indonesia masih sangat tinggi, karena itu antibiotika banyak digunakan (Munaf dkk., 1982).

Sejak diperkenalkannya pemakaian Penisilin di tahun 1943 dan dengan ditemukannya berbagai macam antibiotika yang efektif, telah tercatat dua hal penting, yaitu adanya kecenderungan untuk menggunakan antibiotika secara berlebihan dan tidak rasional, serta timbulnya masalah resistensi mikroba. *Staphylococcus aureus* adalah salah satu kuman yang telah banyak menimbulkan masalah dalam klinik. Isolat *Staphylococcus* ternyata sudah banyak yang menjadi resisten terhadap beberapa antibiotika sehingga menyulitkan pengobatannya (Jawetz *et al.*, 1995).

Beberapa alternatif pengobatan kemudian dipilih, biasanya yang lebih murah dan lebih mudah dijangkau masyarakat. Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi tidak berarti menghilangkan fungsi pengobatan alamiah. Dewasa ini pengobatan alamiah terlihat populer di dalam dan di luar negeri. Gejala ini muncul dari sikap dan keinginan mencari suatu pengobatan alternatif disamping pengobatan modern (Anonimus, 1994). Pengobatan alamiah dengan obat tradisional digunakan untuk mengobati berbagai penyakit pada manusia dan hewan. Bahan yang digunakan untuk pengobatan tradisional dapat berasal dari tumbuh-tumbuhan ataupun hewan seperti

empedu ular kobra, daging tupai dan produk lebah seperti madu, propolis lebah, tepung sari lebah dan royal jelly (Mashudi dkk., 1988).

Hewan mempunyai peranan yang sangat penting dalam penelitian obat. Hewan tersebut tidak hanya digunakan untuk menguji suatu obat dan menentukan kadar secara biologis tetapi juga menghasilkan suatu obat dari jaringannya atau melalui proses biologisnya. Ari (1995) mengatakan bahwa badan lebah pada saat tertentu mengeluarkan antibakteri yang bisa membunuh bakteri yang menempel di tubuhnya. Sarang lebah yang relatif sempit dengan populasi yang besar tetapi tidak terjadi penyakit epidemi, hal itu karena pengaturan dan penyebaran antibakteri dari badan lebah .

Lebah madu yang banyak dipelihara oleh masyarakat Indonesia memberikan keuntungan langsung berupa madu, royal jelly, lilin lebah dan lainnya. Sedangkan keuntungan yang tidak langsung adalah meningkatkan produksi pertanian akibat adanya proses penyerbukan. Pengembangan budi daya madu, khususnya didaerah pedesaan, akan memberi arti penting dalam meningkatkan kesejahteraan dan nilai gizi makanan masyarakat, ketrampilan-ketrampilan serta ikut menjaga kelestarian alam (Widjaya dan Suhartono, 1984).

Propolis mengandung bermacam-macam *bioflavonoid* yang sangat pekat. Kepekatan *bioflavonoid* dipercaya sebagai pembentuk sifat-sifat antibakteri pada propolis. Propolis berfungsi sebagai antibakteri, antivirus, antifungi dan anti inflamasi juga dapat menstimulasi produksi interferon (Wade,1982).

Propolis dalam pengobatan digunakan dalam penyakit kulit yang disebabkan oleh bakteri dan jamur, anemia, trikomoniasis, tuberkulosis, radang mukosa mulut, tukak lambung, penyakit tenggorokan, herpes zoster dan influenza. Selain itu propolis dapat dipakai pada pengobatan kanker (Wade,1982).

Komposisi kimia yang kompleks, membuat royal jelly lebah madu mempunyai khasiat atau efek fisiologis yang bermacam-macam terhadap organisme lain disamping lebah madu itu sendiri. Salah satu khasiat tersebut adalah sebagai antibakteri. Kemampuan royal jelly sebagai antibakteri merupakan perpaduan antara kandungan gula yang tinggi serta terdapatnya dua zat antibakteri yaitu *asam 10-hidroksi-2-decenoat* dan *Royalisin* yang berbentuk protein (Blum *et al.*, 1959; Fujiwara *et al.*, 1990). Royal jelly tersusun dari senyawa yang unik, beberapa bahan biologi yang dapat digunakan secara klinik untuk membantu para lansia dan untuk bermacam-macam penyakit degeneratif (Dayan, 1960).

## **I.2. Perumusan Masalah**

Dari latar belakang masalah yang diuraikan di atas maka permasalahan yang timbul adalah :

- a. Apakah propolis lebah dan royal jelly lebah dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*?
- b. Apakah propolis lebah dan royal jelly dapat menyembuhkan abses yang disebabkan *Staphylococcus aureus* secara *in vivo*?
- c. Apakah terdapat perbedaan lama waktu kesembuhan antara propolis lebah dengan royal jelly terhadap abses yang disebabkan *Staphylococcus aureus* pada hewan coba marmut ?

### **I.3. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui :

- a. Mengetahui *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) propolis lebah dan royal jelly terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.
- b. Penyembuhan abses yang disebabkan *Staphylococcus aureus* dengan pemberian propolis lebah dan royal jelly secara *in vivo* pada hewan coba marmut.
- c. Perbedaan lama waktu penyembuhan abses yang disebabkan *Staphylococcus aureus* dengan pengobatan dengan propolis lebah dan royal jelly.

### **I.4. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat melengkapi informasi tentang propolis lebah dan royal jelly yang dapat berfungsi sebagai alternatif pengobatan terhadap abses akibat infeksi *Staphylococcus aureus*.

### **I.5. Landasan Teori**

Kemampuan antibakteri dari propolis berasal dari kandungan *flavonoid* yang tinggi (Wade, 1982; Grange dan Davey, 1990; Krol *et al.*, 1990).

Propolis membunuh bakteri dengan berbagai cara. Suatu studi melaporkan bahwa propolis dapat mencegah pembelahan bakteri, merusak dinding sel dan membran sitoplasma bakteri serta menghambat sintesa protein bakteri (Takaisi dan Schilcher, 1994).

Royal jelly adalah cairan dengan struktur kimia yang kompleks yang dihasilkan kelenjar *hipofaringeal* lebah madu perawat untuk makanan anak lebah serta merangsang pertumbuhan dan pengembangan individu-individu yang membentuk satu koloni (Harris, 1992).



Komposisi kimia yang kompleks membuat royal jelly mempunyai khasiat atau efek fisiologi yang bermacam-macam terhadap organisme lain. Salah satu khasiat tersebut adalah sebagai antibakteri. Menurut Blum dkk.(1959) kandungan gula yang tinggi dalam royal jelly memberikan kontribusi kemampuan royal jelly untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Royal jelly mengandung asam lemak yang disebut *asam 10-hidroksi-2-decenoat* yang aktif menghambat bakteri dan fungi. Pada tahun 1990, Fujiwara *et al.*, menemukan lagi zat anti bakterial disamping *asam 10-hidroksi-2-decenoat* dalam royal jelly, zat tersebut berbentuk protein dan disebut *royalisin*. Tidak seperti antibakteri sebelumnya, *royalisin* hanya efektif terhadap bakteri Gram positif.

#### 1.6. Hipotesis Penelitian

- a. Propolis lebah dan royal jelly dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.
- b. Propolis lebah dan royal jelly dapat menyembuhkan abses yang disebabkan *Staphylococcus aureus* secara *in vivo* pada hewan coba marmut.
- c. Terdapat perbedaan lama waktu kesembuhan antara propolis lebah dan royal jelly dalam penyembuhan abses akibat infeksi *Staphylococcus aureus* secara *in vivo* pada hewan coba marmut.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1. Tinjauan Tentang Propolis

##### II.1.1. Propolis

Propolis adalah suatu zat seperti getah yang dikumpulkan oleh lebah dari kuncup-kuncup, tangkai daun dan ranting-ranting muda dari pohon tertentu. Lebah pekerja mengumpulkan beragam campuran biologis antara jam 10 pagi sampai tiga sore dengan temperatur sekitar 68°F. Lebah menambahkan sekresi kelenjarnya terhadap zat-zat biologis yang dikumpulkan sebelum menyimpannya di sarangnya. Lebah menggunakan propolis untuk tujuan melindungi dan memperkuat sarang dari serangan virus dan bakteri penyebab infeksi pada larva (Wade, 1982).

Propolis adalah produk alami lebah yang menunjukkan efek antimikrobal (Focht *et al.*, 1993; Rao *et al.*, 1992) termasuk di dalamnya mempunyai aktivitas antibakteri (Grange dan Davey, 1990) antifungi dan antiviral (Wade, 1982). Kemampuan antimikroba dari propolis berasal dari kandungan *flavonoid* yang tinggi (Wade, 1982; Grange dan Davey, 1990; Krol, *et al.*, 1990).

*Bioflavonoid* seperti *rutin*, *hesperidin* dan *kuercitin* adalah golongan glikosida. *Hesperidin* berguna untuk absorpsi dan retensi vitamin C, sedangkan *rutin* digunakan sebagai anti haemoragi dan disebut P-faktor (Claus, 1961).

Beberapa studi mengidentifikasi bahwa campuran *flavonoid* yang bersumber dari propolis lebah mempunyai antiviral khusus yang dapat mengurangi gejala infeksi *herpes simplek*. Kandungan kimia terbesar diidentifikasi sebagai *flavones* dan *flavonol* (Ring, 1995). Secara *in vitro* efek sinergis dari *flavones* dan

*flavonol* menghambat virus *herpes simplek* tipe I dalam sel kultur (Amoros *et al.*,1992).

### II.1.2. Komposisi Propolis

Propolis mengandung 55% resin dan balsam, 30% wax, 10% minyak atsiri dan 5% pollen, lemak, asam amino, asam organik, besi, mangan, seng dan antibakteri. Sifat antibakteri propolis berasal dari *flavonoid* (Wade,1982). Kepekatan *flavonoid* dalam propolis 500 kali kepekatan jeruk yang diketahui mengandung *flavonoid* (Anonimus, 1994).

### II.1.3. Aktivitas Antibakteri Propolis

Aktivitas antibakteri propolis terhadap beberapa tipe bakteri menunjukkan perbedaan, tergantung dari sarang lebah dimana propolis diperoleh. Propolis menunjukkan aktivitas pada *Bacillus subtilis*, *B. alvei* dan *Proteus vulgaris*, sedikit aktif terhadap *Salmonella pulorum*, *S. gallinarum*, *S. tipe dublin*, *E. coli*. Menurut Ikeno *et al.*,(1991) Propolis juga menghambat pertumbuhan *Streptococcus sobrinus*, *S. mutans*, dan *S. cricetus*.

*Sinapic acid*, *isoferulic acid*, *caffeic acid* dan *chrysin* yang diisolasi dari ekstrak propolis dengan alkohol dan diidentifikasi dengan metode spektrometrik menunjukkan efek hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* kecuali *chrysin* (Qiao dan Chen, 1991). *Caffeic acid* ester yang terdapat dalam propolis yang dikombinasi dengan madu dapat mencegah kanker kolon (Rao *et al.*,1992).

Propolis membunuh bakteri dengan beberapa cara, yaitu propolis dapat mencegah pembelahan sel bakteri, merusak dinding sel dan membran sitoplasma bakteri (Takaisi dan Schilcher, 1994).

## II.2. Royal Jelly

Royal Jelly adalah cairan dengan struktur kimia yang kompleks yang dihasilkan kelenjar *hipofaringeal* lebah madu perawat untuk makanan anak lebah, serta merangsang pertumbuhan dan pengembangan individu-individu yang membentuk suatu koloni. Lebah pekerja yang dalam tiga hari diberi royal jelly, beratnya bertambah 250 kali, lebah ratu memakan royal jelly seumur hidupnya dan berat dewasanya dua kali lebah pekerja. Umur lebah pekerja kira-kira 35-40 hari, lebah ratu 5-6 tahun dan bertelur lebih kurang 3000 butir telur perhari. Tepung sari bunga dikumpulkan oleh lebah untuk makanan anak lebah dan sebagai bahan untuk memproduksi royal jelly. Di dalam tepung sari terdapat sebagian besar bahan-bahan utama yang diperlukan untuk pembuatan royal jelly yang mampu membesarkan larva ratu dan lebah pekerja yang masih sangat muda (Harris, 1992).

### II.2.1. Komposisi Royal Jelly

Royal jelly segar mengandung banyak air, bahan padat royal jelly mengandung protein dan karbohidrat dalam jumlah besar. Komposisi yang telah ditemukan dalam royal jelly selengkapnya terdapat dalam tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia Royal Jelly

	% dari berat Royal Jelly segar
Air	65-70
Protein	15-20
Karbohidrat	10-15
Lemak	1, 7-6
Tepung sari	sangat kecil
Mineral : P	di atas 0,5
S	di atas 0,6
Na, K, Fe, Cu, Mg, Mn, Ca	sangat kecil
Zat yang belum teridentifikasi	di atas 3

Sumber : Dayan, 1960 dan Budavari, 1989.

Royal jelly alami berwarna putih susu, jika disimpan pada suhu kamar warnanya akan berubah menjadi getah kuning dan akhirnya setelah beberapa minggu akan membentuk larutan yang mudah rusak (Dayan, 1960). Sampel royal jelly akan tahan lama bila *dilyophilisasi* sehingga dapat disimpan dalam berbagai temperatur. Komposisi vitamin dalam royal jelly terdapat pada tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Vitamin Royal Jelly

Vitamin	Konsentrasi dalam ug/g dari material segar
A	-
B	
Tiamin	2
Ribloflavin	10
Piridoksin	2
Asam Nikotonoc	75
Biotin	2
Asam Folat	0,3
Inositol	100
Asam Pantonetat	250
C	3-5
D	sangat kecil
E	sangat kecil

Sumber : Dayan, 1960 dan Budavari, 1989.

Karbohidrat yang terdapat di dalam Royal Jelly terutama adalah *D-glukosa*, *D-fruktosa* dan *D-sukrosa* (Simo and Christensen, 1962). Senyawa fosfor yang terdapat di Royal Jelly adalah *adenin nukleotida* sebanyak 37,4%; *guanin nukletida* 6,0%; *uridin nukleotida* 54,5%; *cytidin nukleotida* 1,0% dan *inosin monophospat* 1,1%.

### II.2.2. Aktivitas Antibakteri Royal Jelly

Zat anti bakteri yang ditemukan dalam royal jelly adalah *asam 10-hidroksi-2-decenoat* (Blum *et al.*, 1959) dan *Royalisin* (Fujiwara *et al.*, 1990). *Asam 10-hidroksi-2-decenoat* mempunyai struktur  $\text{HO}(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CHCOOH}$ , terdapat dalam jumlah 10% dari keseluruhan royal jelly kering (Budavari *et al.*, 1969). *Asam 10-hidroksi-2-decenoat* efektif terhadap *Micrococcus pyogenes* dan *Escherichia coli* serta mampu menghambat jamur diantaranya adalah *Neurospora sitophila* (Blum *et al.*, 1959). *Royalisin* berbentuk protein dan hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif.

Kekuatan antibakteri royal jelly ditunjukkan dengan kemampuannya menghambat *Micrococcus pyogenes*, *Escherichia coli* dan *Mycobacterium tuberculosis* (Dayan, 1960).

### II.1.3. Cara Pemberian

Royal jelly selama ini diberikan dalam sediaan yang telah *dilyophilisasi*, digunakan pemakaian *peroral*, *sublingual*, atau *parenteral*. Heumann dan Schmidt seperti yang dikutip Dayan (1960) menyatakan bahwa pemakaian *peroral* menghasilkan efek lebih banyak dari rute yang lain. Royal jelly juga dapat digunakan secara topikal sebagai lotion rambut untuk ketombe (Dayan, 1960).

### II.3. Tinjauan Tentang Abses

Abses adalah infeksi purulenta lokal, sebagian atau seluruhnya yang sekelilingnya dibatasi oleh suatu jaringan. Pembentukan abses bersifat terbatas atau bakteri penyebab abses menyebar melalui aliran darah sehingga menyebabkan foki sekunder pada beberapa organ dan jaringan (Freeman, 1985).

Abses merupakan lesi lokal yang bersifat purulenta menyebabkan terjadinya nekrosis jaringan setempat, kemudian terjadi koagulasi fibrin disekitar lesi dan pembuluh getah bening sehingga terbentuk dinding yang membatasi proses nekrosis. Selanjutnya disusul dengan runtuhnya sel radang, dipusat lesi akan terjadi pencairan jaringan nekrotik, cairan abses akan mencari jalan keluar ditempat paling rendah tahanannya. Pembentukan cairan abses diikuti dengan pembentukan cairan granulasi ( Volk, 1992 ).

Seperti diketahui tentang abses steril buatan yang ditandai dengan adanya infiltrasi sel-sel radang pada daerah abses, dapat dilakukan dengan minyak terpentin, garam- garam metal dan jenis minyak lainnya. Bahan-bahan tersebut menunjukkan suatu sifat agresif terhadap induk semangnya berupa radang lokal yang hebat (Martindale, 1989).

Minyak terpentin sebenarnya suatu bahan yang diisolasi dari damar atau pinus dalam berbagai spesies, antara lain *Pinaceae maritima* dan *Pinaceae palustris*. Kandungan utamanya adalah hidrokarbon terpena yaitu *alpha pinena*, *beta pinena*, *felandrena* dan limonena serta bahan yang bersifat alergenik adalah *alpha pinena* dan *limonena* (Robinson, 1993 ).

Terapi konvensional untuk abses adalah insisi, kuret dan drainase dengan atau tanpa pembalutan. Abses juga dapat diterapi dengan melakukan aspirasi dari cairan abses dengan keberhasilan yang bervariasi (Kennedy, 1992). Menurut Robert dan Macbeth (1992) kriteria penting terapi abses adalah :

- Isi abses harus dikeluarkan atau dikuret agar obat dapat berpenetrasi dengan baik.
- Organisme penyebab abses harus sensitif terhadap obat yang diberikan sebagai pengobatan setelah drainase.



## II.4. Tinjauan *Staphylococcus aureus*

### II.4.1. Etiologi

*Staphylococcus* merupakan bakteri Gram positif yang tersusun dalam kelompok yang tidak beraturan. Beberapa diantaranya merupakan flora normal dari kulit dan membran mukosa manusia, sedangkan yang lainnya dapat menyebabkan abses, infeksi piogenik dan septikimia yang fatal. Genus *Staphylococcus* lebih kurang terdiri dari 30 spesies. Tiga spesies utama dalam klinik adalah *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus saprophyticus*. *Staphylococcus aureus* bersifat koagulase positif dan paling patogen pada manusia. *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus saprophyticus* bersifat koagulase negatif dan kadang-kadang menyebabkan infeksi pada manusia (Jewetz *et al.*, 1995).

### II.4.2. Morfologi

*Staphylococcus* berbentuk bulat dengan diameter kira-kira 0,7 - 1 mikro meter, tersusun dalam kelompok yang tidak beraturan, tunggal, berpasangan, berempat dan adapula yang berbentuk rantai pada kultur cair. Pada umur muda bakteri ini merupakan bakteri Gram positif namun jika makin tua bisa berubah menjadi Gram negatif. Kuman ini tidak motil serta tidak membentuk spora dan tidak berkapsul (Jawetz *et al.*, 1995).

### II.4.3. Sifat Pupukan dan Biokimia

*Staphylococcus* tumbuh cepat pada media dalam keadaan aerobik atau mikroaerofilik. Tumbuh baik pada suhu 37°C, membentuk pigmen pada suhu kamar (20-25°C) koloni pada media berbentuk bulat halus dan mengkilat. *Staphylococcus aureus* berwarna abu-abu dan ada koloni yang berwarna kuning, memfermentasi

lambat terhadap karbohidrat serta memproduksi asam laktat. Pada keadaan anaerobik pigmen tidak terbentuk. *Staphylococcus* membentuk katalase yang membedakannya dengan *Streptococcus* (Freeman, 1985; Jawetz *et al.*, 1995).

#### II.4.4. Resistensi

Bakteri ini tahan terhadap kekeringan, panas (tahan pada suhu 50° C selama 30 menit) serta NaCl 9 %, tetapi dihambat oleh beberapa zat kimia seperti 5% Hexachlorophen. *Staphylococcus* sensitif terhadap beberapa antimikrobia namun seringkali juga terjadi resistensi dengan mekanisme :

- a. Produksi beta laktamase, dibawah kontrol plasmid dan membuat beberapa organisme resistensi pada penisilin (Penisilin G, ampisilin, ticarsilin dan beberapa obat sejenis). Plasmid ditransmisikan lewat tranduksi dan mungkin juga lewat konjugasi.
- b. Resistensi terhadap nafsilin, methisilin dan oxasilin yang tidak tergantung pada produksi beta-laktamase. Gen yang resisten terhadap nafsilin tinggal pada kromosom dan kadang-kadang dimunculkan. Mekanisme resistensi terhadap nafsilin berhubungan dengan tidak dapat dicapainya *penicilin binding protein* (PBPs) pada organisme.
- c. Toleransi berarti *Staphylococcus* hanya dapat dihambat oleh obat namun tidak dibunuh. Toleransi dapat terjadi karena berkurangnya aktifitas enzim autolitik pada dinding sel.
- d. Plasmid juga bisa membawa gen yang resisten terhadap tetrasiklin, eritromisin, aminoglikosida dan beberapa obat lain.

#### II.4.5. Struktur Antigenik, Toksin dan Enzim

*Staphylococcus* mempunyai antigen yang berbentuk polisakarida dan protein yang merupakan substansi penting dari struktur dinding sel. Peptidoglikan

merupakan polimer polisakarida berfungsi sebagai eksoskeleton dari dinding sel. Asam teikoik, yang merupakan polimer dari gliserol bergabung dengan peptidoglikan dapat menjadi antigenik. Antibodi antiteikoik dapat dideteksi dengan gel diffusion pada pasien endokarditis yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. Beberapa strain *Staphylococcus aureus* mempunyai kapsul yang menghambat fagositosis oleh leukosit polimorfonuklear jika tidak ada antibodi spesifik. Tes serologis sangat berguna untuk identifikasi *Staphylococcus*. Beberapa enzim dihasilkan oleh bakteri ini antara lain : katalase, hyaluronidase, staphylokinase, proteinase, lipase dan beta laktamase.

*Staphylococcus aureus* juga menghasilkan beberapa toksin :

a. Eksotoksin

Yaitu alpha, beta, gamma dan delta toksin. Toksin-toksin ini dapat menyebabkan nekrosis pada kulit, melisiskan eritrosit, merusak platelet serta meracuni beberapa sel termasuk sel darah merah manusia.

b. Leukocidin

Toksin ini membunuh sel darah putih dari beberapa hewan.

c. Exoelastin Toksin

Toksin *Staphylococcus aureus* ini terdiri dari sedikitnya dua macam protein yang menyebabkan deskuamasi luka pada kulit yang terinfeksi oleh *Staphylococcus*.

d. Toxic Shock Syndrome.

Sebagian besar strain *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari pasien yang menderita Toxic Shock Syndrome disamakan dengan enterotoksin F dan exotoksin phyrogenik C. Pada manusia toksin ini menyebabkan demam, menambah kepekaan terhadap efek lipopolisakarida bakteri dan beberapa efek yang sejenis toxic shock syndrome, namun deskuamasi kulit tidak terjadi.

#### e. Enterotoksin

Terdapat sedikitnya enam toksin (A-F) yang dihasilkan lebih kurang 50% strain *Staphylococcus aureus*. Enterotoksin tahan panas (tahan pada air mendidih selama 30 menit) dan tahan pada enzim pencernaan. Penelanan sebanyak 25 mikrogram enterotoksin oleh manusia atau kera dapat menyebabkan muntah dan diare. Efek emetik dari enterotoksin disebabkan oleh stimulasi sistem syaraf pusat setelah toksin bekerja pada reseptor syaraf di usus. Enterotoksin dapat dideteksi dengan tes presipitasi (Freeman, 1985; Jawetz *et al.*, 1995).

#### II.4.6. Penularan

*Staphylococcus*, khususnya *Staphylococcus epidermidis* merupakan flora normal dari kulit manusia, saluran respirasi dan saluran pencernaan. *Staphylococcus* biasanya juga terdapat pada pakaian, kain sprei dan ludah atau muntahan manusia. Keracunan *Staphylococcus* melalui makanan dapat disebabkan oleh hanya karena menelan enterotoksin yang akhirnya dapat menyebabkan bakterimia dan abses pada semua organ (Jawetz *et al.*, 1995).

#### II.4.7. Patogenitas dan Gejala Klinis

Karakteristik lesi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah abses (Burrow,s 1985). Menurut Jawetz *et al.*(1995), infeksi lokal *Staphylococcus* berupa bisul, infeksi folikel rambut atau abses. Infeksi terlokalisasi, mengalami reaksi peradangan yang ditunjukkan supurasi pada pusat luka dan kesembuhan terjadi ketika nanah telah kering. Dinding fibrin dan sel-sel disekitar pusat luka mencegah penyebaran organisme. Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat diakibatkan oleh kontaminasi pada luka, misalnya infeksi *Staphylococcus aureus* pada luka post operasi. Jika *Staphylococcus aureus* tersebar dan terjadi bakterimia akan berakibat endokarditis akut, osteomyelitis, meningitis atau infeksi pada paru-paru. Keracunan

makanan karena enterotoksin *Staphylococcus* mempunyai karakteristik waktu inkubasi yang pendek (1-8 jam), mual yang parah, vomit, diare dan segera akan membaik serta tidak terjadi demam. Toxic Shock Syndrome ditandai dengan demam tinggi yang tiba-tiba, vomit, diare, myalgia, kemerahan pada kulit, hipotensi serta kegagalan jantung dan ginjal pada beberapa kasus (Jawetz *et al.*, 1995).

Peradangan setempat *Staphylococcus* merupakan sifat khas dari infeksi *Staphylococcus*. Dari fokus ini kuman akan menyebar ke bagian tubuh yang lain melalui pembuluh getah bening dan pembuluh darah, sehingga dapat terjadi peradangan vena dan trombosis (Volk, 1992).

## BAB III

### MATERI DAN METODE

#### III.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, selama kurang lebih dua bulan mulai 21 Agustus 1996 sampai dengan 21 Oktober 1996.

#### III.2. Materi Penelitian

Isolat kuman yang dipakai adalah *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari laboratorium Kesehatan Kotamadya Surabaya. Propolis lebah dan royal jelly yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari peternakan lebah perhutani Prigen.

Media yang digunakan dalam penelitian ini untuk media pertumbuhan adalah *Manitol Salt Agar*, *Brain Heart Infusion broth*, dan *Muller Hinton Agar*. Bahan kimia yang digunakan adalah Ethyl alkohol 96%, alkohol 70%, Ethyl Klorida Spray dan aquades. Alat-alat yang digunakan adalah : rak dan tabung reaksi, cawan petri, ose, pembakar bunsen, inkubator, spatel, erlenmeyer, gelas ukur, pipet, timbangan sartorius, skalpel, kapas, dan pinset.

Hewan coba yang digunakan adalah cavia (marmut) berumur enam bulan sebanyak 66 ekor yang terbagi menjadi 2 kelompok. Kelompok pertama untuk penentuan  $ID_{50}$  sebanyak 36 ekor dan kelompok kedua terdiri dari 30 ekor untuk perlakuan pengobatan. Kelompok perlakuan dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok pertama ( A) terdiri dari 10 ekor marmut untuk perlakuan pengobatan abses

dengan propolis lebah dan dilakukan tindakan operatif kelompok kedua (B) terdiri dari 10 ekor marmut untuk perlakuan pengobatan abses dengan royal jelly dan dilakukan tindakan operatif dan kelompok ketiga (C) terdiri dari 10 ekor marmut dilakukan tindakan operatif tanpa pengobatan.

### **III.3. Metode Penelitian**

Penelitian ini menggunakan dua tahap, tahap pertama adalah penelitian secara *in vitro* menggunakan uji sensitivitas metode dilusi dengan penentuan MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*). Tahap kedua adalah penelitian secara *in vivo* pada hewan coba marmut, meliputi penentuan  $ID_{50}$  dan perlakuan pengobatan pada abses dengan propolis lebah dan royal jelly serta dilakukan tindakan operatif.

#### **III.3.1. Persiapan Penelitian**

##### **a. Pembuatan Ekstrak Propolis Lebah**

Ekstrak propolis dibuat dengan cara propolis lebah ditimbang sebanyak lima gram dan ditambahkan ethyl alkohol 96% kedalamnya sebanyak 50 ml kemudian digerus untuk membantu menghaluskan. Larutan dibiarkan selama empat hari pada temperatur 37°C dan dikocok. Larutan kemudian disaring dengan kain flanel putih dan diperas. Ekstrak yang didapat diuapkan sampai kental (Takeda *et al.*, 1989).

Setelah disaring, filtrat yang diperoleh digunakan untuk uji sensitivitas metode dilusi untuk penentuan MIC dan MBC (Harborne dan Swain, 1969; Peach dan Tracey, 1975) dan untuk pengobatan abses pada percobaan secara *in vivo*.

#### b. Suspensi Kuman

Empat sampai lima koloni kuman *Staphylococcus aureus* diambil dan disuspensikan dengan satu mililiter *Brain Heart Infusion broth* (BHI), diinkubasi pada suhu 37°C selama empat sampai delapan jam. Selanjutnya ditambahkan aquades steril sampai kekeruhannya sebanding dengan standart Mc. Farland No. 1 (Jang, *et al.*, 1978).

#### c. Persiapan Hewan Coba

Untuk memperoleh kondisi tubuh yang optimal pada saat dilakukan penelitian, maka 66 ekor marmut tersebut, dilakukan tindakan penyesuaian lingkungan selama dua minggu. Marmut ditempatkan dalam kandang beteraian dan diberi makan serta minum secara *ad libitum* (Smith dan Mangkoewidjodjo, 1988).

### III.3.2. Pelaksanaan Penelitian

#### III.3.2.1. *In Vitro* dengan melakukan MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*) Test

MIC dan MBC test dilakukan dengan membuat pengenceran ekstrak propolis dengan beberapa konsentrasi. 12 buah tabung steril disiapkan dan diberi nomor satu sampai 12. Tabung nomor dua sampai 12 masing-masing diisi satu mililiter akuades steril. Tabung nomor satu dan dua diisi dengan satu mililiter larutan ekstrak propolis. Tabung nomor dua dicampur sampai homogen, diambil satu mililiter dan dimasukkan kedalam tabung nomor tiga, demikian seterusnya sampai tabung nomor 10. Selanjutnya dari tabung nomor 10 diambil satu mililiter dan dibuang, tabung nomor 11 untuk kontrol akuades. Tabung nomor satu sampai 11 masing-masing ditambah suspensi kuman



sebanyak satu mililiter, dikocok sampai homogen, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi kemudian diamati kekeruhan isi tabung, hal ini untuk menentukan MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*). Larutan dari tabung pertama (konsentrasi 100%) diambil sebanyak 0,1 ml dan dimasukkan kedalam cawan petri pertama, larutan pada tabung kedua (konsentrasi 50%) diambil sebanyak 0,1 ml dan dimasukkan kedalam cawan petri kedua demikian seterusnya sampai tabung 12 (aquades). Selanjutnya pada masing-masing cawan petri dituangi media MHA yang masih hangat (52-55)°C . Media kemudian didinginkan. setelah dingin dan padat, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, diamati pertumbuhan kuman untuk mengetahui konsentrasi bakterisidal minimal (MBC) dari propolis lebah terhadap *Staphylococcus aureus* (Finegold dan Baron,1986).

Perlakuan yang sama pada propolis lebah di atas, juga dilakukan pada royal jelly untuk mengetahui konsentrasi hambatan minimal (MIC) dan konsentrasi bakterisidal minimal (MBC) royal jelly. Setelah diketahui konsentrasi minimal dari ekstrak propolis lebah dan royal jelly dalam membunuh *Staphylococcus aureus* maka dilakukan uji secara *in vivo*.

### III.3.2.2 *In Vivo*

Meliputi penentuan *Infected Dose* (ID<sub>50</sub>) dan pengobatan pada abses yang disebabkan *Staphylococcus aureus* pada marmut secara topikal.

#### a. Penentuan ID<sub>50</sub>

Langkah pertama dengan membuat pengenceran, untuk perhitungan kuman dengan metode Koch dengan cara sebagai berikut :

1. Menyiapkan enam buah tabung reaksi yang diberi nomor satu sampai enam. Pada masing-masing tabung reaksi diisi dengan sembilan ml NaCl fisiologis. Tabung reaksi satu diisi dengan suspensi kuman *Staphylococcus aureus*, sebanyak satu ml diaduk sampai merata dan dari tabung reaksi satu ini diambil sebanyak satu ml dan dimasukkan pada tabung reaksi dua, diaduk lalu diambil sebanyak satu ml dimasukkan pada tabung reaksi tiga, diaduk rata begitu seterusnya sampai tabung reaksi enam. Dari tabung reaksi enam diambil satu ml, lalu dibuang sehingga didapatkan pengenceran kuman  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ , dan  $10^{-6}$ .
2. Menyiapkan enam cawan petri yang diberi nomor satu sampai enam, yang masing-masing diisi dengan satu ml dari pengenceran kuman  $10^{-1}$ , pengenceran kuman  $10^{-2}$ , pengenceran kuman  $10^{-3}$  dan seterusnya sampai pengenceran kuman  $10^{-6}$ . Keenam cawan petri tersebut kemudian dituangi media *Muller Hinton Agar* (MHA) yang bersuhu  $44-45^{\circ}\text{C}$  digoyang pelan-pelan sampai rata dan didinginkan sampai rata dan padat, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ .

Langkah kedua dengan menyiapkan 36 ekor marmut berumur enam bulan. 36 ekor marmut ini disuntik secara subkutan dengan satu ml minyak terpentin pada daerah muskulus gluteus dengan tujuan untuk membuat peradangan sebelum diinfeksi dengan isolat *Staphylococcus aureus*. Setelah timbul peradangan lokal pada tempat suntikan yang ditandai dengan panas, merah dan nyeri. Kemudian 36 ekor marmut ini dibagi menjadi enam kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari enam ekor marmut. Hasil pengeceran kuman pada langkah pertama di atas disuntikan pada marmut secara subkutan pada tempat yang telah meradang tadi sebanyak satu ml dengan cara pengenceran kuman  $10^{-1}$  pada kelompok marmut pertama, pengenceran kuman  $10^{-2}$  pada

kelompok marmut kedua dan seterusnya sampai pada pengenceran kuman  $10^{-6}$  disuntikkan pada kelompok marmut keenam.

Gejala klinis berupa bengkak dan terdapatnya timbunan nanah di bawah kulit merupakan indikasi marmut menderita abses yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. Masing-masing kelompok kemudian dihitung jumlah marmut yang menderita abses dan yang tidak mengalami abses. Untuk memastikan abses disebabkan *Staphylococcus aureus* dilakukan sedikit *punctie* pada abses, kemudian pus/nanah yang terdapat didalamnya diambil dengan cotton swab dan ditanam pada media MSA serta dilakukan uji identifikasi dan uji biokimia. Hasil perhitungan tersebut digunakan untuk menentukan  $ID_{50}$  berdasar rumus Reed dan Muench (Cottral, 1978).

#### b. Perlakuan pengobatan

Perlakuan pengobatan pada marmut menggunakan marmut sebanyak 30 ekor. Marmut tersebut dibagi menjadi dua kelompok yaitu 20 ekor untuk kelompok perlakuan dan 10 ekor untuk kelompok kontrol.

Pada kelompok perlakuan dibagi menjadi dua kelompok, yaitu 10 ekor marmut untuk perlakuan pengobatan dengan propolis lebah dan dilakukan tindakan operatif (A), 10 ekor untuk perlakuan pengobatan dengan royal jelly dan dilakukan tindakan operatif (B) dan 10 ekor sisanya kelompok hewan coba dilakukan tindakan operatif tapi tidak diobati (C) kontrol. Seperti pada perlakuan penentuan  $ID_{50}$ , 30 ekor marmut disuntik dengan minyak terpentin masing-masing satu ml pada daerah *muskulus gluteus* secara *subkutan*. Setelah timbul gejala peradangan, selanjutnya pada lokasi tersebut akan disuntikkan isolat kuman *Staphylococcus aureus* secara *subkutan* sebanyak satu ml dengan dosis yang diperoleh dari penentuan  $ID_{50}$ .

Setelah timbul abses akibat penyuntikan dengan isolat kuman *Staphylococcus aureus*, kemudian dilakukan tindakan operatif. Marmut dibersihkan, yaitu dengan mencuci didaerah sekitar abses dengan air sabun kemudian dilakukan clipping (pencukuran bulu) lalu dicuci dengan sabun. Setelah kering disekitar daerah tersebut diberi alkohol 70% dengan menggunakan tampon supaya daerah sekitar abses steril. Selanjutnya diberikan anestesi lokal dengan *ethyl klorida spray*. Kemudian dilakukan tindakan bedah yaitu dengan menginsisi bagian abses dan mengeluarkan nanah atau pus abses sampai bersih lalu dilakukan drainase dengan akuades steril.

Setelah diperkirakan bersih (tidak terdapat nanah atau pus pada luka bekas abses), maka dilakukan tindakan pengobatan pada kelompok A dengan propolis lebah, kelompok B dengan royal jelly dan kelompok C tanpa pengobatan (Kontrol). Dosis yang digunakan adalah dosis hasil penentuan MBC pada pengobatan *in vitro*. Pengobatan dilakukan tiga kali sehari (jam 06.00; 14.00; 22.00) secara topikal sampai terjadi kesembuhan abses. Pengamatan proses penyembuhan luka dilakukan tiga kali sehari bersamaan dengan pengobatan luka bekas abses.

### **III.3.3. Parameter Yang Diamati**

- a. Pada penentuan *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) yaitu dengan melihat kekeruhan isi tabung reaksi. Kekeruhan pada isi tabung reaksi berarti bahwa masih terdapat pertumbuhan kuman. Pada penentuan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) yaitu dengan melihat ada tidaknya pertumbuhan koloni kuman pada media Agar. Tidak adanya pertumbuhan kuman berarti antibakteri pada konsentrasi tertentu dapat membunuh kuman.

- b. Lama waktu penyembuhan abses ditandai dengan proliferasi jaringan kulit dan pembentukan jaringan ikat serta tidak terbentuk lagi pus atau nanah pada luka bekas abses, yang telah diobati. Satuan yang dipergunakan dalam perhitungan lama waktu penyembuhan abses adalah hari.

#### **III.3.4. Rancangan dan Analisis Penelitian**

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan 10 ulangan. Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis dengan menggunakan uji F (sidik ragam) untuk mengetahui pengaruh perlakuan-perlakuan terhadap lama waktu penyembuhan abses. Apabila diperoleh perbedaan nyata digunakan uji t dengan Beda Nyata Terkecil atau uji BNT dengan derajat signifikansi 1% (Kusriningrum, 1989).

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

#### IV.1. *In Vitro*

Penelitian mengenai efektivitas propolis lebah dan royal jelly pada abses yang disebabkan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dengan metode dilusi yaitu penentuan *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) diperoleh seperti pada tabel 3 dan 4.

Tabel 3. Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan Pemberian Propolis Lebah dan Royal Jelly pada Pengujian MIC.

Tabung	Konsentrasi	Propolis lebah	Royal jelly
1	100%	Jernih	Jernih
2	50%	Jernih	Jernih
3	25%	Jernih	Jernih
4	12,5%	Jernih	Jernih
5	6,25%	Jernih	Jernih
6	3,125%	Jernih	Jernih
7	1,5625%	Keruh	Keruh
8	0,7812%	Keruh	Keruh
9	0,3906%	Keruh	Keruh
10	0,1953%	Keruh	Keruh
11	Kontrol	Keruh	Keruh
12	Aquades	Jernih	Jernih

Keterangan :

keruh = Terdapat pertumbuhan bakteri.

jernih = Tidak terdapat pertumbuhan bakteri.

Tabel 4 . Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan Pemberian Propolis Lebah dan Royal Jelly pada Pengujian MBC.

Tabung	Konsentrasi	Propolis lebah	Royal jelly
1	100%	-	-
2	50%	-	-
3	25%	-	-
4	12,5%	-	-
5	6,25%	-	-
6	3,125%	+	+
7	1,5625%	+	+
8	0,7812%	+	+
9	0,3906%	+	+
10	0,1953%	+	+
11	Kontrol	+	+
12	Aquades	-	-

Keterangan :

+ = Terdapat pertumbuhan bakteri

- = Tidak terdapat pertumbuhan bakteri

Dari tabel tiga dan empat di atas diketahui *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) propolis lebah dan royal jelly pada konsentrasi 3,125% dan 6,25%.

#### IV.2. *In Vivo*

Pada penentuan  $ID_{50}$  dengan menggunakan rumus Reed dan Muench, diketahui bahwa pada pengenceran  $10^{-4}$ , 50% hewan coba mengalami abses yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* (tabel 5). Dosis yang digunakan untuk  $ID_{50}$  adalah sebanyak  $1,845 \times 10^3$  sel / ml (lampiran 1).

Tabel 5. Perhitungan  $ID_{50}$

Pengenceran	Hasil individu		Hasil Komulatif		%	Jumlah Kuman
	+	-	+	-		
$10^{-1}$	6	0	21	0	100%	~
$10^{-2}$	5	1	15	1	94%	~
$10^{-3}$	5	1	10	2	83%	~
$10^{-4}$	3	3	5	5	50%	296
$10^{-5}$	2	4	2	9	18%	174
$10^{-6}$	0	6	0	15	0%	35

Keterangan :

- + = Abses.
- = Tidak abses

Berdasarkan hasil pengamatan selama beberapa hari terhadap 30 ekor hewan coba marmut diperoleh hasil 30 ekor hewan coba mengalami kesembuhan (perlakuan A, B, C) dengan waktu penyembuhan yang bervariasi (lampiran 3).

Data mengenai lama waktu penyembuhan abses seperti pada tabel 6.



**Tabel 6. Lama Waktu Penyembuhan Abses pada Marmut dengan Pengobatan Propolis Lebah dan Royal jelly (dalam satuan hari).**

Ulangan	Propolis (A)	Royal jelly (B)	Kontrol (C)
1	5,75	7,68	28,28
2	6,72	7,34	29,98
3	6,07	7,01	29,60
4	6,39	7,66	29,59
5	6,39	7,33	31,58
6	6,06	7,33	28,26
7	6,71	7,65	29,92
8	5,73	6,66	29,91
9	6,05	7,31	32,22
10	6,69	7,31	33,55
<b>Total</b>	<b>62,53</b>	<b>73,28</b>	<b>302,89</b>
<b>rata-rata</b>	<b>6,253<sup>a</sup></b>	<b>7,328<sup>b</sup></b>	<b>30,289<sup>c</sup></b>

Superskrip : a = waktu penyembuhan lebih pendek.

b = waktu penyembuhan sedang.

c = waktu penyembuhan paling lama.

Berdasarkan tabel 6 di atas, dapat diketahui bahwa rata-rata lama waktu penyembuhan abses pada kelompok perlakuan A (pengobatan dengan propolis lebah) adalah 6,253 hari, perlakuan B (pengobatan dengan royal jelly) adalah 7,328 hari, sedangkan perlakuan C (perlakuan dengan tindakan operatif tanpa tindakan pengobatan) adalah 30,289 hari.

Setelah dilakukan analisa data dengan menggunakan uji F, maka diperoleh F hitung sebesar  $1778,058 > F \text{ tabel } (0,01) = 5,49$ , sehingga secara statistik disimpulkan bahwa ketiga perlakuan tersebut (A,B,C) memberikan perbedaan yang sangat nyata terhadap lama waktu penyembuhan abses pada marmut (lampiran 2).

Hasil analisis statistik dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan bahwa perlakuan C (perlakuan dengan tindakan operatif tanpa tindakan pengobatan) membutuhkan waktu penyembuhan abses paling lama dan berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (pengobatan dengan propolis lebah dan dilakukan tindakan operatif) dan perlakuan B (pengobatan dengan royal jelly dan dilakukan tindakan operatif). Perlakuan A (pengobatan dengan propolis lebah) memerlukan waktu penyembuhan abses yang pendek. Antara perlakuan A (pengobatan dengan propolis lebah dan dilakukan tindakan operatif) dan B (pengobatan dengan royal jelly dan dilakukan tindakan operatif) berbeda nyata dengan taraf signifikansi 1% (lampiran 2).

## BAB V

### PEMBAHASAN

Hasil penelitian penentuan MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*) propolis lebah terhadap *Staphylococcus aureus* konsentrasi 3,125% dan 6,25%, sedangkan penentuan MIC dan MBC pada royal jelly terhadap *Staphylococcus aureus* diketahui pada konsentrasi 3,125% dan 6,25%. Hal ini menunjukkan bahwa propolis lebah dan royal jelly dapat menghambat pertumbuhan kuman pada konsentrasi 3,125% dan membunuh kuman *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi yang sama yaitu 6,25%, dikarenakan propolis dan royal jelly mempunyai efektifitas yang sama terhadap *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri Gram positif.

Propolis lebah mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan kuman karena kandungan *flavonoidnya* yang tinggi (Wade, 1982; Evans, 1989; Grange dan Davey, 1990; Frol *et al.*, 1990). Suatu studi melaporkan bahwa propolis dapat mencegah pembelahan bakteri, sehingga bakteri tidak dapat berkembang biak, merusak dinding sel dan membran sitoplasma bakteri (Takaishi dan Schilcher, 1994). Propolis lebah sebagai antibakteri dibuktikan efektif terhadap berbagai jenis bakteri terutama bakteri Gram positif dan kurang efektif terhadap bakteri Gram negatif (Grange dan Davey, 1990).

Royal jelly terbukti mampu menghambat bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Royal jelly mempunyai tiga faktor untuk menghambat bakteri Gram positif yaitu: kadar gula yang tinggi, asam 10-hidroksi-2-decenoat, dan Royalisin. Sedangkan untuk menghambat bakteri Gram negatif terdapat dua faktor yaitu

kadargula yang tinggi dan asam 10-hidroksi-2-decenoat (Fujiwara *et al.*,1990). Menurut Blum *et al.*(1959), kadar gula yang tinggi dalam royal jelly mempunyai kontribusi dalam kemampuannya menghambat pertumbuhan bakteri. Kadar gula yang tinggi menyebabkan cairan bakteri terserap keluar. Faktor antibakteri yang lain adalah adanya *royalisin* (Fujiwara *et al.*,1990). *Royalisin* berbentuk protein dan mempunyai mekanisme kerja merusak membran potensial bakteri. *Royalisin* hanya efektif pada bakteri Gram positif. Efektifitasnya terhadap bakteri Gram positif dapat dianalogkan dengan dua peptida mikrobiosidal MCP1 dan MCP2 dari makrofag dan leukosit yang juga memiliki tiga ikatan sulfida di tiap molekul serta menunjukkan hambatan selektif terhadap bakteri Gram positif. Sedangkan untuk bakteri Gram negatif yang mempunyai membran luar fosfolipid, dapat menghalangi masuknya *royalisin* kedalam sel bakteri (Katzung 1989).

*Asam 10-hidroksi-2-decanoat* hasil ekstraksi royal jelly berupa asam lemak, mempunyai daya antibakteri yaitu dengan jalan menghambat sintesis protein kuman (Blum *et al.*, 1959). *Asam 10-hidroksi-2-decenoat* melekat ke protein spesifik pada subunit 30 S dari ribosom 70 S mikroba, kemudian menghambat aktifitas normal kompleks pemula pembentukan peptida (mRNA + formil methionin + tRNA), pesan mRNA salah dibaca pada daerah pengenalan ribosom dan sebagai akibatnya asam amino yang salah dimasukkan kedalam peptida ini yang menghasilkan protein yang tidak fungsional. Perlekatan *asam 10-hidroksi-2-decenoat* mengakibatkan pecahnya polisom menjadi monosom yang tidak dapat mensintesis protein (Katzung,1989).

Marmut merupakan salah satu jenis mamalia yang mempunyai kulit yang lebih elastis dan lebih banyak vaskularisasinya jika dibandingkan dengan kulit

unggas. Kulit yang elastis apabila mengalami luka akan lebih cepat bertaut kembali, sehingga dalam proses penyembuhannya memerlukan sedikit regenerasi epitel, jaringan granulasi, serta jaringan parut (Prince and Wilson, 1993). Menurut Swaim (1980), vaskularisasi mutlak diperlukan dalam jumlah yang cukup untuk menyediakan nutrisi dan oksigen dalam menunjang dan mempercepat waktu penyembuhan luka.

Pada percobaan secara *in vivo*, pada hari kedua setelah marmut disuntik secara subkutan dengan minyak terpentin satu ml semua hewan coba mengalami radang kulit lokal yang dapat dilihat secara makroskopis berupa kemerahan dan kebengkakan. Radang dibuat dengan tujuan memberikan faktor predisposisi pada kuman *Staphylococcus aureus*. Isolat *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi hasil penentuan  $ID_{50}$  yaitu pada pengenceran  $10^{-4}$  sebanyak satu ml disuntikkan secara subkutan pada lokasi radang saat tanda-tanda radang muncul. Tanda-tanda abses muncul setelah empat hari pasca penyuntikan dengan isolat *Staphylococcus aureus* yang dapat dilihat dengan adanya kebengkakan dan timbunan nanah. Untuk membuktikan bahwa abses yang timbul karena infeksi *Staphylococcus aureus* dilakukan uji isolasi, identifikasi dan biokimia dengan mengambil sampel nanah dari masing-masing hewan coba. Pada penelitian ini hasil isolasi, identifikasi dan uji biokimia membuktikan abses disebabkan *Staphylococcus aureus*.

Pengobatan dengan melakukan tindakan operatif untuk menghilangkan timbunan pus/nanah yaitu dengan menginsisi daerah abses, kemudian dilakukan drainase dengan akuades steril sehingga pus/nanah dipastikan benar-benar sudah bersih, setelah itu baru dilakukan tindakan pengobatan dengan propolis lebah dan royal jelly secara topical dalam bentuk salep dengan komposisi 6,25% hasil

penentuan MBC pada pengobatan secara *in vivo*. Pengobatan dengan propolis lebah dan royal jelly dalam bentuk salep dimaksudkan memperbaiki viskositas stabilitas fisis dan sifat sawar terhadap air, disamping itu dapat melindungi kulit yang luka dari benda-benda asing (Anief, 1997). Pengobatan dilakukan tiga kali sehari sampai abses sembuh.

Hasil pengamatan pada akhir pengobatan abses, diperoleh hasil 20 ekor marmut mengalami reaksi pemulihan atau kesembuhan abses baik yang diobati dengan propolis lebah maupun yang diobati dengan royal jelly dengan tanda luka insisi mengering, terbentuk jaringan ikat dan tidak terbentuknya pus (gambar 5) dalam waktu singkat. Menurut Robbins dan Kumar (1987), reaksi pemulihan adalah penggantian sel mati oleh sel hidup dan biasanya ditandai adanya proliferasi jaringan ikat dan pembentukan jaringan parut. Jaringan parut yang dibentuk oleh jaringan ikat dipandang sebagai pemulihan yang efisien meskipun harus diikuti dengan hilangnya sel-sel parenkim yang fungsional. Hal ini menyebabkan hilangnya apendiks kulit seperti rambut, kelenjar keringat dan lemak.

Pada perhitungan statistik diperoleh hasil  $F_{hit} = 1778,058 > F_{tabel} (0,01 = 5,49)$  (lampiran 2). Dengan demikian maka antara ketiga perlakuan yaitu perlakuan A (pengobatan dengan propolis lebah dan dilakukan tindakan operatif), perlakuan B (pengobatan dengan royal jelly dan dilakukan tindakan operatif) dan perlakuan C (tanpa pengobatan tapi dilakukan tindakan operatif) terdapat perbedaan sangat nyata terhadap lama waktu penyembuhan abses. Dari hasil uji t dengan menggunakan Beda Nyata Terkecil (BNT) diperoleh hasil perlakuan C membutuhkan waktu paling lama dalam menyembuhkan abses yaitu  $30,289 \pm 1,684$  hari dan perlakuan A membutuhkan waktu penyembuhan paling pendek yaitu  $6,253 \pm 0,38$  hari yang

berbeda nyata dengan perlakuan B yang membutuhkan waktu penyembuhan  $7,328 \pm 0,314$  hari (dengan taraf signifikansi 1%).

Hasil percobaan *in vivo* membuktikan bahwa kelompok perlakuan A (pengobatan dengan propolis lebah) dan kelompok perlakuan B (pengobatan dengan royal jelly) dapat menyembuhkan abses yang disebabkan *Staphylococcus aureus*. Hal ini disebabkan karena propolis lebah dengan kandungan flavonoidnya yang tinggi mempunyai aktifitas anti bakterial (Wade,1982; Evans 1989; Krol *et al.*,1990) menginduksi kekebalan nonspesifik host, juga diketahui sebagai anti inflamasi, anti alergi, anti trombotik dan sifat-sifat menghambat perkembangan tumor (Evans ,1989). Sedangkan royal jelly mempunyai efek farmokologi yang hampir sama dengan propolis lebah yaitu, aktivitas antibakteri (*royalisin* dan asam *10-hidroksi-2-decanoat*), aktivitas anti inflamasi dan anti tumor (Fuji *et al.*, 1990).

Pada kelompok perlakuan A (Pengobatan dengan propolis lebah), pada hari kedua luka sudah kering, tidak tampak keluarnya pus/nanah dan kesembuhan terjadi rata-rata pada hari keenam. Kegunaan Flavanoid didalam klinik adalah sebagai P faktor (permeability faktor), karena berkhasiat menurunkan permeabilitas kapiler (mencegah pendarahan kapiler) dan memperbaiki kerapuhan kapiler (Claus, 1973; Tyler *et al*, 1988). Pembuluh kapiler mutlak diperlukan dalam jumlah yang cukup untuk menyediakan nutrisi dan oksigen dalam menunjang dan mempercepat waktu penyembuhan luka bekas abses (Turner,1978; Swaim 1980). Selain itu *hesperidin* yang terdapat dalam propolis berfungsi untuk absorpsi dan retensi vitamin C. Vitamin C dibutuhkan untuk epitelisasi normal, pembentukan pembuluh darah, dan kolagen (Jenning, 1984)

Sebagai anti inflamasi propolis menekan pembengkakan lokal, sehingga suplai darah ke daerah luka tidak terganggu. Defisiensi suplai darah ke daerah luka menyebabkan perlambatan penyembuhan luka (Prince and Wilson,1993).

Pada perlakuan B (Pengobatan dengan royal jelly), pada hari ketiga, luka sudah mengering, tidak terdapat pus/nanah dan kesembuhan terjadi rata-rata pada hari ketujuh. Royal jelly menurunkan kelembaban dan kandungan kolagen yang dapat menghambat eksudasi. Pada proses inflamasi, permeabilitas kapiler meningkat, menyebabkan eksudasi yang membentuk odema pada jaringan akut inflamasi. Penurunan kelembaban (kandungan air) dapat menurunkan permeabilitas kapiler yang merupakan cara kerja obat anti inflamasi (Fuji *et al.*,1990).

Pengobatan dengan Propolis lebah dan Royal jelly berguna untuk mempercepat reaksi pemulihan luka bekas abses, disamping tubuh melakukan proses regenerasi. Propolis lebah dan royal jelly selain mempunyai aktivitas antibakteri yang efektif terhadap *Staphylococcus aureus*, juga mempunyai aktifitas anti inflamasi yang dapat membantu proses penyembuhan luka.

Kelompok perlakuan C (tanpa pengobatan tapi dilakukan tindakan operatif), memerlukan waktu penyembuhan abses paling lama bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan A (pengobatan dengan propolis lebah dan dilakukan tindakan operatif) dan kelompok perlakuan B (pengobatan dengan royal jelly dan dilakukan tindakan operatif). Hal ini disebabkan tubuh harus memberikan perlawanan untuk menghilangkan gangguan bakteri *Staphylococcus aureus* yang menginfeksi. Disamping itu tubuh harus membentuk sel-sel jaringan yang baru untuk mengganti jaringan tubuh yang rusak akibat luka (luka dibuat untuk mengeluarkan pus/nanah dari abses). Bakteri dalam perkembangannya memerlukan nutrisi sebagai faktor



pertumbuhan yang diambil dari jaringan tubuh penderita. Hal ini menyebabkan metabolisme yang dipakai untuk pembentukan jaringan tubuh akan berkurang, sehingga proses pembentukan jaringan baru akan terhambat (Archibald and Blakely, 1974).

Pada perlakuan C tampak pada minggu pertama setelah tindakan operatif (insisi, kuret dan drainase) luka masih mengeluarkan pus/nanah dikarenakan tubuh penderita belum mampu memproduksi antibodi dalam jumlah cukup untuk mengeliminir bakteri *Staphylococcus aureus*. Adanya luka membantu keadaan ini, cairan abses akan mencari jalan keluar ditempat yang lebih rendah tahanannya. Selain itu juga terdapat lebih banyak cairan serus yang dikeluarkan dan lebih lama kering. Kesembuhan ini juga tergantung dari daya tahan masing-masing individu, karena jika daya tahan tubuh tidak dapat mengatasi maka akan timbul suatu reinfeksi ataupun timbulnya infeksi sekunder (Peacock and Van Winkle, 1976).

Menurut Swaim (1980) kejadian akibat radang itu dibedakan menjadi dua yaitu respon vaskuler dan respon seluler. Respon vaskuler merupakan sesuatu yang mendasar untuk reaksi radang yang meliputi perubahan aliran darah dan perubahan permeabilitas vaskuler. Robbins dan Kumar (1987) menambahkan bahwa perubahan vaskuler ini menyebabkan munculnya eksudasi yang merupakan cairan radang ektravaskuler dengan berat jenis tinggi dan seringkali mengandung protein serta sel-sel darah putih yang melakukan emigrasi. Walaupun abses bersifat lokal, dari fokus ini kuman menyebar kebagian tubuh yang lain melalui pembuluh getah bening dan pembuluh darah, sehingga terjadi bakterimia dan abses pada semua organ yang menyebabkan kematian (Volk, 1992).

Setiap hewan sehat mempunyai daya tahan tubuh terhadap adanya penyakit atau gangguan mikroba. Sel darah putih (polimorphonuklear dan monosit) dengan rangsangan kemotaksis bermigrasi ke daerah luka untuk memulai proses pembersihan luka. Neutrofil memakan mikroorganisme dengan cara fagositosis. Monosit menjadi makrofage ketika memasuki daerah luka untuk memfagositosis jaringan nekrotik serta runtuh sel epitel jaringan. Monosit juga menarik fibroblas kedalam luka dan merangsang sel ini untuk sintesa kolagen (Peacock and Van Winkle,1976).Daya tahan atau resistensi yang dihasilkan oleh tubuh ini menyebabkan semakin lama tubuh dapat membentuk jaringan tubuh yang baru sebagai pengganti jaringan tubuh yang rusak, sehingga penyembuhan dapat terjadi walaupun memerlukan waktu yang lebih lama (Tizzard, 1987). Berdasarkan teori tersebut maka dapat dimengerti jika pada akhirnya kelompok perlakuan C juga akan mengalami kesembuhan meskipun tidak diobati.

Dari penelitian ini dapat dilihat bahwa pemberian propolis lebah dan royal jelly dapat menyembuhkan abses yang disebabkan *Staphyloccocus aureus* dalam waktu yang cukup singkat. Hal ini berarti propolis lebah dan royal jelly mempunyai efektifitas yang tinggi terhadap penyembuhan abses yang disebabkan *Staphyloccocus aureus* sehingga dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### VI.1. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Propolis lebah dan royal jelly dapat menyembuhkan abses yang disebabkan *Staphylococcus aureus* pada hewan coba marmut.
2. Propolis lebah dan royal jelly dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 3,125% dan dapat membunuh *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 6,25% secara *in vitro*.
3. Propolis dapat menyembuhkan abses lebih cepat dibandingkan dengan royal jelly.

#### VI.2. SARAN

1. Menggunakan propolis lebah dan royal jelly dengan konsentrasi 6,25% pada penyembuhan abses yang disebabkan *Staphylococcus aureus*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang propolis lebah dan royal jelly dengan menggabungkan kedua bahan tersebut atau menggunakan hewan coba lain serta aktivitas antibakterinya terhadap penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* atau pada bakteri yang lain.

## RINGKASAN

Rahendra Prasetya Eko Sudarsono, Efektifitas pemberian propolis lebah dan royal jelly terhadap abses yang disebabkan *Staphylococcus aureus* pada hewan coba marmut (dibawah bimbingan Ibu Nanik Sianita S.U, Drh sebagai pembimbing pertama dan Bapak Didik Handijatno M.S.,Drh sebagai pembimbing kedua).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat dan daya bunuh propolis lebah dan royal jelly terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dan lama kesembuhan abses yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* pada hewan coba marmut dengan pemberian propolis lebah dan royal jelly.

Persiapan penelitian dilakukan dengan mengisolasi dan mengidentifikasi *Staphylococcus aureus* serta mengekstraksi propolis dan royal jelly dan melakukan tindakan penyesuaian lingkungan terhadap 66 ekor marmut sebagai hewan coba. Penelitian ini menggunakan dua tahap yaitu tahap penelitian secara *in vitro* menggunakan uji sensitivitas metode dilusi dengan penentuan metode *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) dan secara *in vivo* pada hewan coba marmut meliputi penentuan  $ID_{50}$  dengan menggunakan 36 ekor marmut dan perlakuan pengobatan pada abses dengan propolis lebah dan royal jelly menggunakan 30 ekor hewan coba marmut.

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah melihat kekeruhan isi tabung reaksi serta pertumbuhan koloni kuman pada media Agar, dan lama waktu penyembuhan abses. Tidak adanya pertumbuhan kuman berarti anti bakteri pada konsentrasi tertentu dapat membunuh kuman. Penyembuhan abses ditandai dengan proliferasi jaringan kulit dan pembentukan jaringan ikat serta tidak terbentuknya nanah

pada luka bekas abses yang telah diobati. Sahan yang dipergunakan dalam perhitungan lama waktu penyembuhan abses adalah hari. Hasil penelitian ini diuji dengan sidik ragam dengan signifikansi satu persen, apabila terdapat perbedaan yang sangat nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil dengan taraf signifikansi satu persen.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini adalah propolis lebah dan royal jelly dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Propolis lebah dan royal jelly juga dapat menyembuhkan abses yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 6,25% dan lama waktu penyembuhan abses berbeda nyata antara kedua obat tersebut.

Saran yang diberikan dari penelitian ini adalah menggunakan propolis lebah dan royal jelly dengan konsentrasi 6,25% pada penyembuhan abses, dan diadakannya penelitian lebih lanjut tentang propolis lebah dan royal jelly terhadap penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* atau bakteri yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amoros, M., Simoes., CM., Girre, L., Sauvager, F and Cormier. M. 1992. Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. J. - Nat-Prod. 55 (12). (abstr) : 1732 - 1740.
- Anief, Moh., 1997. Formulasi Obat Topikal dengan Dasar Penyakit Kulit. Cetakan pertama. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. Hal 30-36
- Anonimus, 1993. Memasyarakatkan Taman Obat Keluarga (TOGA), Pemanfaatan Tanaman Obat (PTO) dan Cara Meracik Obat Tradisional (jamu). Proyek Pengabdian Kepada Masyarakat. Ed 3. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Surabaya, Hal. 3-4.
- Anonimus, 1994. Distributor Kit High Desert Co, CC Pollen Co, Phoenix, Arizona, USA.
- Anonimus, 1996. Infeksi Kulit Kian Resisten Antibiotika. Jawa Pos, 4 Agustus 1996. hal. 7.
- Archibald, J. and Blakely, C.L. 1974. Surgical Principles. In Archibald, J. Canine Surgical. American Veterinary Publication. Inc. Drawer KK, Santa Barbara. California. 17-33.
- Ari, 1995. Ratusan Tahun Lalu Hewan Telah Mengenal Antibiotika. Infonet. Edisi Februari. Hal. 18 - 19.
- Blum, M.S., Novak, A.P. and S. Taber, 1959. 10-Hydroxy-2-Decenoic Acid, Antibiotik Found in Royal Jelly. Science. 3373 (130) : 452-453.
- Budavari, S., 1989. The Merck Index. 11<sup>th</sup> Ed. Merck and Co., Inc Rahway. New York. USA.
- Burrows, Gerard N., Oppenheimer, Jack Volpe, Robert. 1984. WB Saunders Company. Philadelphia. London. Toronto. Mexico city. Rio de Janeiro. Sydney. Tokyo.
- Claus, Edward P. 1961. Pharmacognosy. Fourth Edition. Lea and Febinger. Philadelphia. 143-144.
- Cottral, G.E. 1978. Manual of Standardized Methods for Veterinary Microbiology. Comstock Publishing a division of Cornell University Press. Ithaca and London. 380-388.
- Dayan A.D., 1960. A Note On Royal Jelly, A Critical Evaluation. The Journal of Pharmacy and Pharmacology. 12 : 377-383.

- Evans, William Charles. 1989. *Trease and Evans Pharmacognosy*. Thirteenth Ed. Baillieer Tindall. London. 420.
- Finegold, M, Sydney and Baron, Ellen Jo. 1986. *Diagnostic Microbiology*. Sevent Edition. The C.V. Mosby Company. St. Louis. Toronto. Princeton. 152.
- Focht, J., Hansen, SH, Nielsen, JV., Van de Berg Segers, A and Riezler, R. 1993. Bactericidal effect of propolis in vitro against agents causing upper respiratory tract infections. *Arzeimittelforschung*. 43 (8) (abstr) : 921-923.
- Freeman, B.A. 1985. *Burrow's Textbook of microbiology*. 22<sup>th</sup> Ed. WB Saunders Company. Philadelphia London Toronto Mexico city Rio de janeiro Sydney Tokyo.
- Fuji, A., Kobayashi, S., Kuboyama, N., Furukama, Y., Kaneko, Y., Ishima, Yamamoto, H., and Tanura, T., 1990. Augmentation of Wound Healing by Royal Jelly (RJ) in Streptozotosin Diabetic Rat. *Jpn, J. Pharmacol.* 53(3) : 331-337.
- Fujiwara, S., Imai, J., Fujiwara, M., Yashima, T., Kawashima, T., and A. Kobayashi, 1990. A Poten Antibacterial Protein in Royal Jelly. *Journal of Biological Chemistry*. 19(256) : 11333-11337.
- Grange, JM and Davey, RW. 1990. Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J-R-Soc-Med*. 83 (3) (abstr) : 159-160.
- Harborne. JB and T. Swain. 1969. *Perspective in phytochemistry*. Academic Press. London and New York.
- Harris, C.L., 1992. *Concepts in Zoology*. 1<sup>st</sup> Ed. Harper Collins Publisher Inc., New York .USA.
- Ikeno, K., Ikeno, T and Miyazama, C. 1991. Effects of propolis on dental caries in rats. *Caries-Res*. 25(5) (abstr) : 347-351.
- Jang, S.S., Biberstein, E.L., and Hirsh, D.C. 1978. *A Diagnostic Manual of Veterinary Clinical Bacteriology and Mycology*. 4<sup>th</sup> – 22<sup>th</sup>. Paradeniya
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adeiberg, E.A., Brooks, J.F., Butel, J.S. and L Nicholas Ornstrom, 1995. *Medical Mikrobiology*. 12<sup>th</sup> Ed. Appleton and Lange. Prentice-Hall International Inc. London. U.K.
- Katzung, B.G. 1989. *Farmakologi dasar dan klinik*. Edisi 3. EGC. Jakarta. Hal 607-612.
- Kennedy, I. 1992. Aspiration Abscesge. *Med-Dig*. 4-9.

- Krol, W., Czuba, Z., Scheller, S., Gabry, J., Grabiec, and Shani, J. 1990. Antioxidant property of ethanolic extract of propolis (EEP) as evaluated by inhibiting the chemiluminescence oxidation of luminol. *Biochem-Int.* 21 (4) (abstr) : 593-597.
- Kusriningrum, 1989. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap.* Universitas Airlangga. Surabaya. 53-64, 91-97, 123, 135-147.
- Marko, P., Ivan, P. and V. Josef, 1964. Some Phosphorus Compound in Royal Jelly. *Nature.* 121(4928) : 188-189.
- Martindale.1989. *The Extra Pharmacopoeia.* 29<sup>th</sup>Ed. The Pharmaceutical Press. London.
- Mashudi, Ketut P dan Oding S. 1988. *Lebah Madu, Madu Lebah di Indonesia tahun 2000.* Penerbit Pusat Apriari Pranuka. Jakarta.
- Merchant, I.A., and R.A. Parker, 1971. *Veterinary Bacteriology and Virology.* The Iowa State University Press. Ames. Iowa.
- Munaf, S., Santoso, A.U.S. dan T. Hutabarat, 1982. Prevelensi *Staphylococcus aureus* Penghasil Penisilinase yang diisolasi oleh Laboratorium Mikrobiologi FK UI Jakarta. *Medika* (6) : 431-436.
- Peach, K and Tracey. 1975. *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse.* Dritter band springer verlag. Berlin. 450-458.
- Peacock, E.E. and W. Von Winkle. 1976. *Wound Repair.* 2<sup>nd</sup> Ed. Philadelphia. 277-294.
- Prince, S.A., and Wilson, L.M.C., 1995. *Patofisiologi.* 2<sup>nd</sup> Edition. EGC. Jakarta. 31-53.
- Qiao, Z., and Chen, R. 1991. Isolation and identification of antibiotic constituents of propolis from Henan. *Chungkuo Chung Yao Ysa Chih.* 16(8) (abstr) : 481-482, 512.
- Rao, CV., Desai, D., Kaul B., Amin, S and Reddy. BS. 1992. Effect of caffeic acid esters on carcinogen induced mutagenicity and human colon adenocarcinoma cell growth. *Chem-Biol-Interac.* 84(3) (abstr) : 277-290.
- Ring, Sven Arne, 1995. Antiviral Complex of Flavonoids from propolis in the Treatment of Herpes Infection, *Journal of Alternative and Complementary.* January Edition. 9-10.
- Robbins, S.L. and V. Kumar, 1987. *Basic Pathology.* W.B. Saunders Company. Philadelphia. London. Toronto. Sidney. Tokyo. Hongkong. 51-60.
- Robinson, 1989. *Kandungan Organik Tumbuhan tinggi.* Penerbit UI Jakarta.



- Robert R and Macbeth. 1992. Treatment of Abscesses, Med-Dig. 10-11.
- Simo, K. and G.M. Christensen, 1962. Quantitative Analysis of Sugars in Royal Jelly. 196(4860) : 1208-1209.
- Smith, J.B.1974. Veterinary Pathology. 4<sup>th</sup> Ed. Lea and Febringer. Philadelphia. USA
- Smith, J.B., dan Mangkoewidjojo, S.,1988. Pemeliharaan, Pembiakan, dan Pengunaan hewan Percobaan Daerah Tropis. Penerbit UI. Jakarta.
- Swaim, J.F.1980. Wound Healing in Surgery of Traumatized Skin. Philadelphia. W.B. Saunders 70-115. In Jennings, P.B. 1<sup>st</sup> Volume. W. B. Saunders Company. Philadelphia. London. Toronto. Mexico city. Rio de Janeiro. Sydney. Tokyo
- Takaisi, K and Schilcher, H. 1994. Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of defined propolis provenance. Planta-Med. 60(3) (abstr) : 222-227.
- Takeda, K. Enoki, S. Harborne, J. B. , and Eagles, J. 1989. Phytochemistry. 28. 499-500.
- Tizzard, I 1987. Veterinary Immunology and Introduction. 33 th Ed. WB Soulders Company. Phyladelphia. London Toronto. Sydney. Tokyo. Hongkong 267-270.
- Tyler, V.E., Brady, L.R., dan Robert, J.E., 1988. Pharmacognosy, 9<sup>th</sup> Philadelphia. Lea and Febringer 67-245.
- Turner, A.S., 1978 Lokal and sistemic Faktor Affectiny Wound. Hoaling in Proceedings of the American Assosiation of Equin Practitioners, 335. In Jenning 1<sup>st</sup> Volume. W. B. Saunders Company. Phyladelphia. London. Toronto. Mexico city. Rio de Janeiro. Sydney. Tokyo. 288-294
- Volk, Wesley A., 1992. Basic Microbiology. Harper Colinns Publisher Inc., New York .USA.
- Wade, Carlson, 1982. Bee Propolis the Natural Answer to Colds. Flu, Sore Throats and Other Infections. The American Chiropractor. January/February Ed. 28-30.
- Widjaja, M.C., dan Suhartono, 1984. Lebah Madu Sahabat Kita. Berita Entomologi. No. 1. Hal 13-14.

## LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan ID<sub>50</sub>

Pengenceran	Hasil individu		Hasil Kumulatif		%	Jumlah Kuman
	+	-	+	-		
10 <sup>-1</sup>	6	0	21	0	100%	-
10 <sup>-2</sup>	5	1	15	1	94%	-
10 <sup>-3</sup>	5	1	10	2	83%	-
10 <sup>-4</sup>	3	3	5	5	45%	296
10 <sup>-5</sup>	2	4	2	9	18%	174
10 <sup>-6</sup>	0	6	0	15	0%	35

Pengenceran 50% end point = 10<sup>-4</sup> / dosis

ID<sub>50</sub> = end point × dosis/ml

$$= 10^{-4} \times 1 \text{ ml}$$

$$= 10^{-4}$$

1ml suspensi kuman = 10<sup>4</sup> ID<sub>50</sub>.

Jumlah kuman dengan metode koch 1 ml suspensi kuman mengandung

$$= \frac{296 \times 10^4 + 174 \times 10^5 + 35 \times 10^6}{3}$$

$$= \frac{5,536 \times 10^7}{3}$$

$$= 1,845 \times 10^7$$

Mula-mula suspensi kuman mengandung:

$$10^4 ID_{50} = 1,845 \times 10^7$$

$$ID_{50} = \frac{1,845 \times 10^7}{10^4}$$

$$= 1,845 \times 10^3 \text{ sel / ml.}$$

Jadi jumlah kuman yang digunakan adalah  $1,845 \times 10^3$  sel/ ml.

Lampiran 2. Lama Waktu Penyembuhan Abses pada Marmut Dengan pengobatan Propolis Lebah dan Royal Jelly.

Ulangan	Propolis	Royal jelly	Kontrol
	A	B	C
1	5,75	7,68	28,28
2	6,72	7,34	29,98
3	6,07	7,01	29,60
4	6,39	7,66	29,59
5	6,39	7,33	31,58
6	6,06	7,33	28,26
7	6,71	7,65	29,92
8	5,73	6,66	29,91
9	6,05	7,31	32,22
10	6,69	7,31	33,55
Total	62,53	73,28	302,89
Rata-rata	6,253 <sup>a</sup>	7,328 <sup>b</sup>	30,289 <sup>c</sup>
SD	0,38	0,314	1,684

$$FK = 6415,256$$

$$JKT = 3714,8097$$

$$JKP = 3686,975$$

$$JKS = 27,835$$

$$KTP = 1843,4875$$

$$KTS = 1,031$$

$$Fhit = 1778,0577$$

**Sidik ragam lama waktu penyembuhan abses akibat pengobatan propolis lebah dan royal jelly**

Sumber keragaman	Db	JK	KT	Fhit	Ftab	
					0,05	0,01
Perlakuan	2	3686,98	1843,49	1778,058 **	3,25	5,49
Sisa	27	27,84	1,031			
Total	29	3714,81				

$F_{hit} > F_{tab} (0,01)$ .

Ternyata bahwa ketiga perlakuan A ( pengobatan dengan propolis lebah), B ( pengobatan dengan royal jelly), dan C ( tanpa pengobatan ) tersebut memberikan hasil yang berbeda sangat nyata terhadap lama waktu penyembuhan abses yang disebabkan *Staphylococcus aureus* pada hewan coba marmut.

Selanjutnya dilanjutkan dengan uji t dengan BNT ( 0,01)

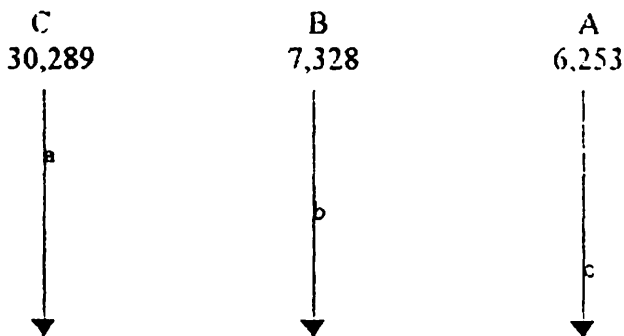
$$\text{BNT} ( 0,01) = 2,271 \times \sqrt{\frac{2 \times 1,0384}{10}}$$

$$= 1,031$$

Perbedaan rata-rata perlakuan berdasarkan uji Beda Nyata Terkecil

Perlakuan	Rata-rata	Beda		BNT( 0,01 )
		X-C	X-B	
A	30,289 <sup>a</sup>	24,036*	22,961*	1,031
B	7,328 <sup>b</sup>	1,075*		
C	6,253 <sup>c</sup>			

Notasi



Kesimpulan :

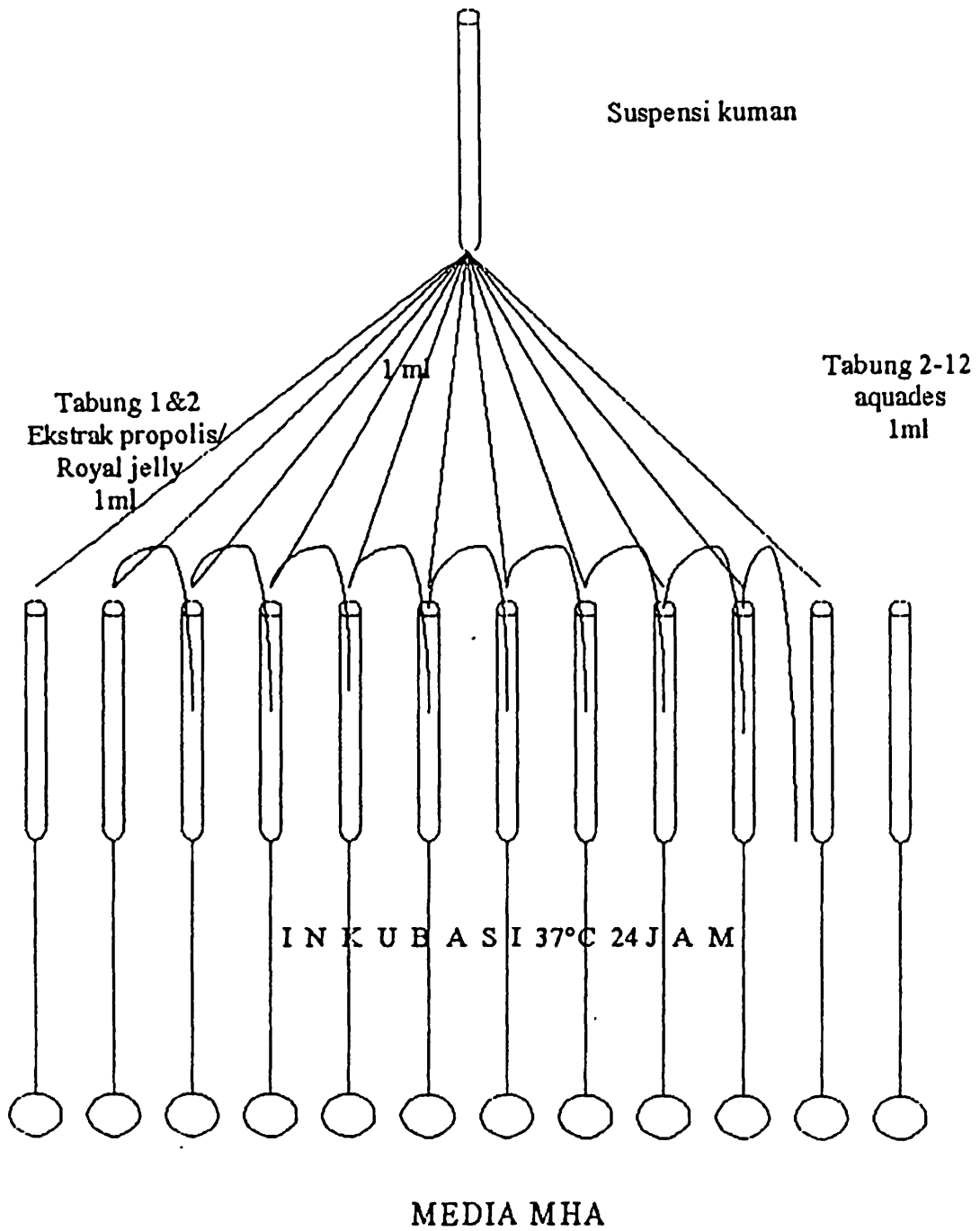
Bahwa perlakuan C mempunyai tanda a, memerlukan waktu penyembuhan abses paling lama. Perlakuan A mempunyai tanda c , memerlukan waktu penyembuhan abses paling pendek dan berbeda nyata dengan perlakuan B mempunyai tanda b dengan taraf signifikansi 0,01

Lampiran 3. Hasil Pengamatan lama waktu penyembuhan abses pada marmut

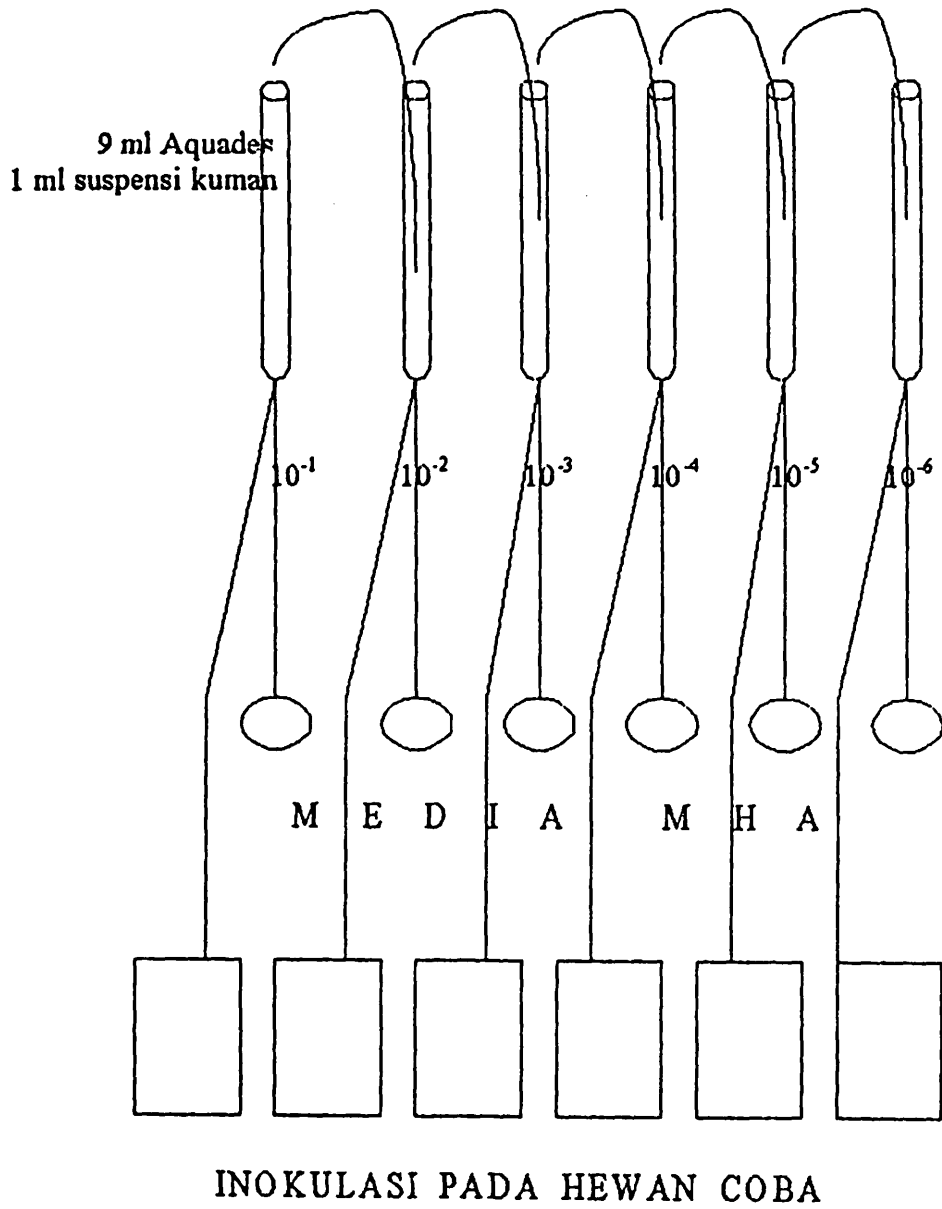
HPATGL	31-Aug	1-Sep	2-Sep	3-Sep	4-Sep	5-Sep	6-Sep	7-Sep	8-Sep	9-Sep	10-Sep	11-Sep	12-Sep	13-Sep	14-Sep	15-Sep	16-Sep	17-Sep	18-Sep	19-Sep	20-Sep	21-Sep	22-Sep	23-Sep	24-Sep	25-Sep	26-Sep	27-Sep	28-Sep	29-Sep	30-Sep	1-Oct	2-Oct	3-Oct	4-Oct	5-Oct	
A1	12.00						6.00																														
A2	12.10							6.00																													
A3	12.20						14.05																														
A4	12.30						22.10																														
A5	12.40						22.15																														
A6	12.50						14.20																														
A7	13.00							6.05																													
A8	13.10						6.40																														
A9	13.20						14.30																														
A10	13.30							6.10																													
B1	13.40								6.00																												
B2	13.50							22.05																													
B3	14.00							14.10																													
B4	14.10								6.05																												
B5	14.20							22.15																													
B6	14.30							22.20																													
B7	14.40								6.10																												
B8	14.50							6.50																													
B9	15.00							22.30																													
B10	15.10							22.35																													
C1	15.20														22.00																						
C2	15.30																																				
C3	15.40																																				
C4	15.50																																				
C5	16.00																																				
C6	16.10																																				
C7	16.20																																				
C8	16.30																																				
C9	16.40																																				
C10	16.50																																				



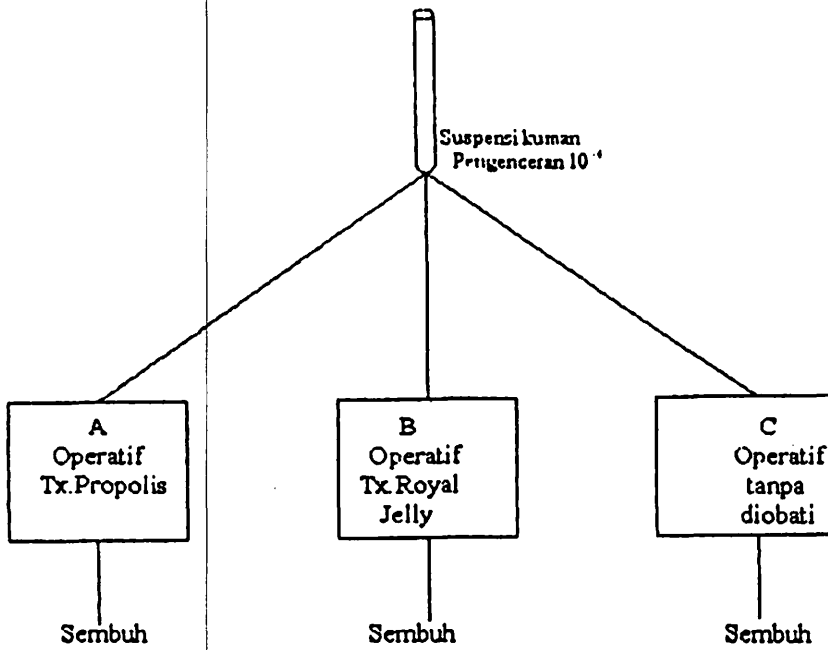
**Lampiran 4. Skema Penentuan MIC dan MBC Propolis lebah dan Royal jelly**



Lampiran 5. Skema Penentuan ID<sub>50</sub>



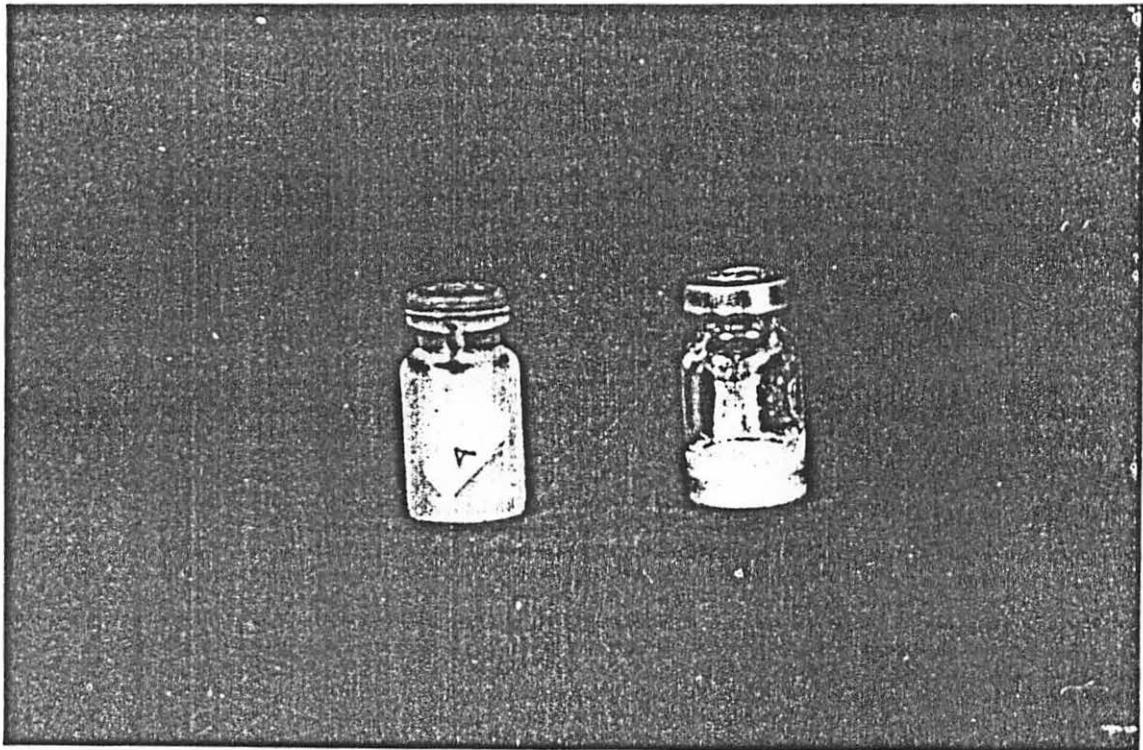
**Lampiran 6. Skema Perlakuan Percobaan dengan Tiga Perlakuan**



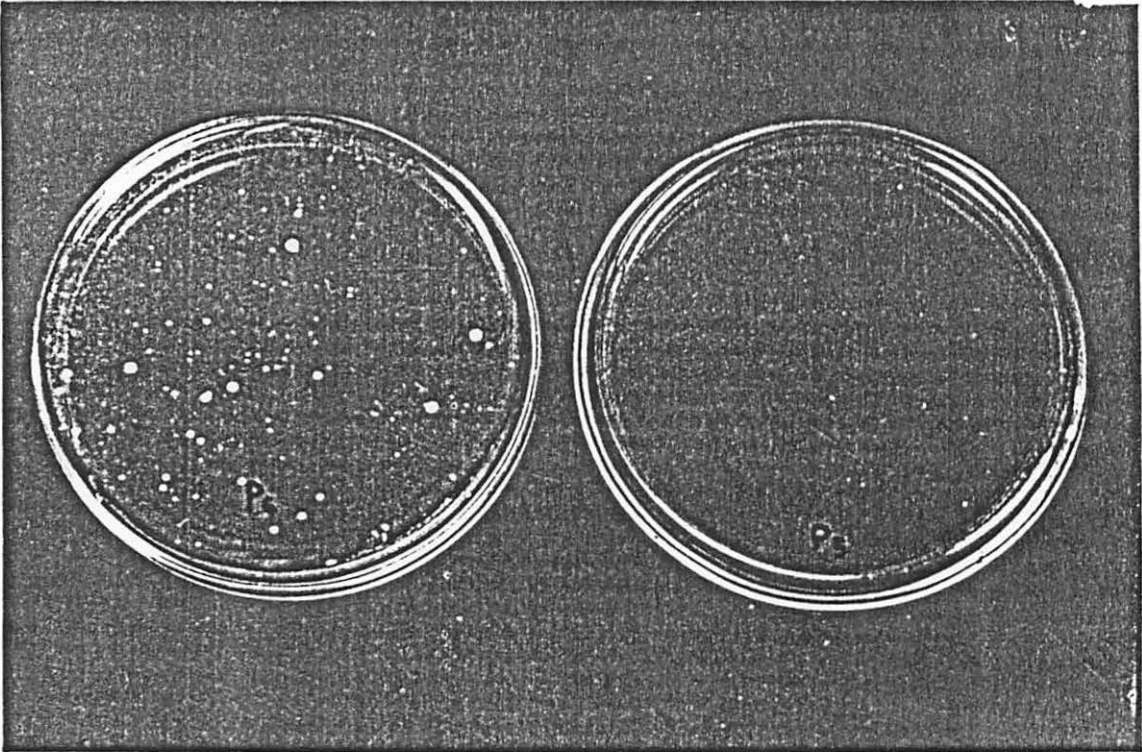
# GAMBAR



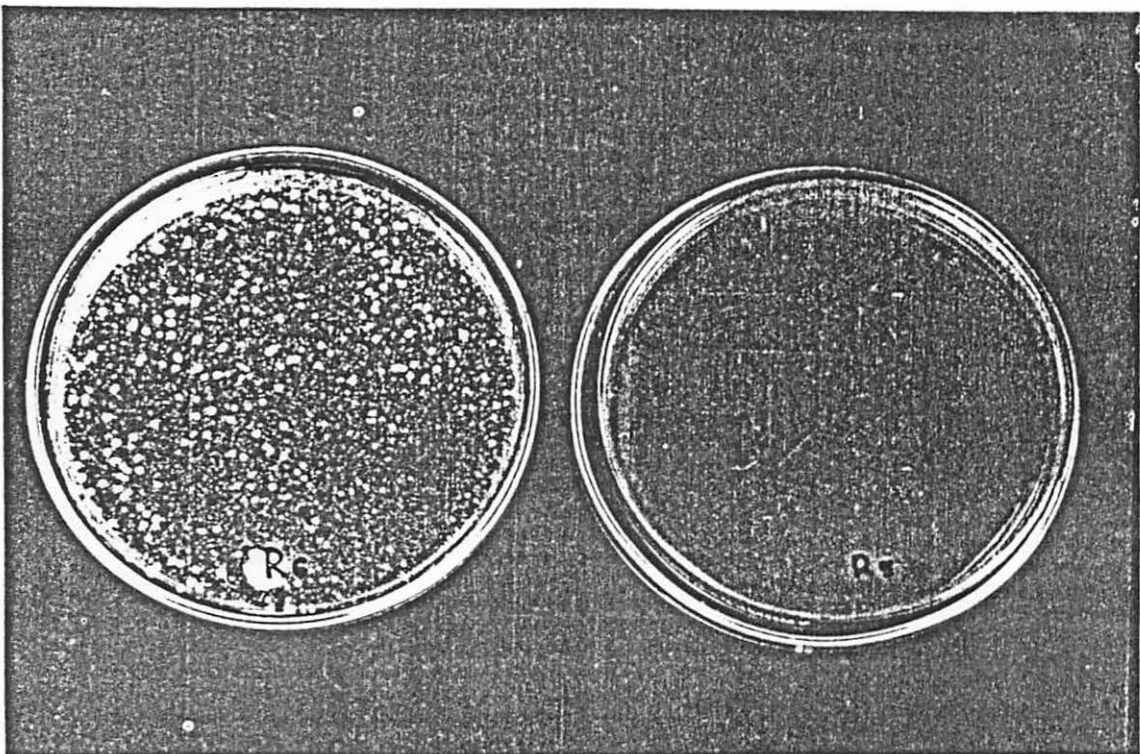
Gambar 1. Propolis Lebah



Gambar 2. Royal Jelly



Gambar 3. MBC Propolis Lebah



Gambar 4. MBC Royal Jelly