

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Propolis

a. Definisi



Gambar 1. Propolis *Apis Trigona* dari Peternakan Lebah di Nglipar, Gunung Kidul

Propolis dalam bahasa Yunani berasal dari kata *pro* yang berarti pertahanan, dan *polis* yang berarti kota, sehingga makna dari propolis yaitu pertahanan kota. Kota merujuk pada sarang lebah, karena itu lebah menggunakan propolis (lem lebah) sebagai perlindungan dari hewan lain yang membahayakan sarang *Apis Trigona*. Propolis juga memiliki fungsi untuk melindungi sarang lebah *Apis Trigona* dari mikroorganisme yang berbahaya bagi koloninya (Bankova, 2000).

Propolis diambil oleh lebah pekerja dari getah pohon dan *wax*, kemudian dikumpulkan di dalam sarangnya. Proses pembentukan propolis dimulai dari saat lebah memasukkan getah dan nektar pada

tanaman ke dalam mulut yang kemudian bercampur dengan *saliva* lebah yang mengandung *wax* atau lilin, sehingga terjadi percampuran antara zat resin dari getah pohon dengan saliva lebah atau *beewax* (Fokt dkk., 2010).

Produksi propolis dari setiap lebah sangat bervariasi, beberapa lebah yang menghasilkan sedikit propolis, antara lain yaitu spesies *Mellifera*, *Dorsata*, dan *Cerana*. Sedangkan lebah yang memproduksi propolis dalam jumlah banyak yaitu spesies *Trigona* (Weiss dan Vergara, 2002).

b. Karakteristik

Bentuk fisik propolis sangatlah bervariasi, tergantung spesies lebah dan *pollen* yang diambil dari tanaman di sekitar tempat tinggal lebah. Pada umumnya warna propolis adalah transparan, namun ada juga yang berwarna kuning hingga coklat gelap (Fokt dkk., 2010). Pada suhu 25^o-45^oC propolis menjadi lengket, hal ini dikarenakan *beewax* dan resin pada propolis yang berubah tekstur menjadi sol atau semipadat. Pada suhu yang rendah, propolis berubah menjadi keras namun mudah rusak. Di atas suhu 45^oC, propolis menjadi lebih lengket dan kenyal. Pada suhu 60^o-100^oC propolis akan mulai mencair (Wagh, 2013).

c. Sejarah Penggunaan

Propolis sudah dikenal sejak zaman dahulu. Propolis digunakan pertama kali sebagai zat perekat di zaman Mesir Kuno. Bangsa

Yahudi juga menggunakan propolis, yang mereka kenal dengan sebutan *tzori*, pada bidang pengobatan. Pada era Yunani kuno, propolis sudah mulai digunakan sebagai bahan dasar parfum dengan cara mencampur *olibanum styrax* dan tanaman aromatic. Pada abad pertengahan, penggunaan propolis bukan menjadi topik yang populer dalam bidang penelitian. Sekitar abad ke 19, para ilmuwan akhirnya dapat membuktikan bahwa propolis memiliki manfaat yang penting (Kuropatnicki dkk, 2013).

d. Kandungan

Sejak tahun 2000, sekitar 300 senyawa kimia dalam propolis telah tercatat seperti *flavonoid*, terpenes, dan fenol (Huang dkk., 2014). Dilakukan analisis kimia pada propolis dengan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GCMS), dan telah teridentifikasi 150 kandungan di dalamnya (Greenaway dkk., 1991). Senyawa organik yang ditemui dalam propolis antara lain adalah senyawa fenol dan ester, *flavonoid* (*flavonol*, *flavon*, *flavonon*, *dihydroflavonoles*, dan *chalcones*), *terpenes*, *beta-steroids*, *aldehid aromatic*, alkohol, *sesquiterpenes*, dan *stilbene terpenes* (Viuda-Martos dkk., 2008). Kandungan propolis dapat dipengaruhi oleh lokasi geografik dari lebah. Lokasi yang terdapat pada dataran tinggi cenderung memiliki konsentrasi komponen senyawa kimia yang lebih sedikit dibandingkan pada dataran rendah, akan tetapi tidak menurunkan efek biologisnya (Popova dkk., 2007).

e. Manfaat

Propolis telah banyak digunakan sebagai obat tradisional sejak jaman dahulu. Penelitian dengan penggunaan propolis sudah banyak dilakukan, dengan *in vitro* maupun *in vivo*. Penelitian-penelitian tersebut mendapatkan hasil bahwa propolis bersifat antibakteri baik terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Grange dan Davey, 1990). Selain antibakteri, propolis dapat bersifat anti inflamasi (Machado dkk., 2012); sebagai anti jamur terutama terhadap spesies *Candida* (Yalfani, 2012); sebagai antioksidan (da Silva Frozza dkk., 2012); sebagai antivirus (Coelho dkk., 2015).

f. Aktivitas Antibakteri *Flavonoid* pada Propolis

Khasiat propolis sebagai antibakteri sudah diteliti oleh peneliti sebelumnya. Propolis memiliki daya antibakteri karena memiliki *flavonoid* yang terkandung di dalamnya. *Flavonoid* merupakan senyawa fenol yang telah diidentifikasi memiliki sifat antibakteri (Kumar dan Pandey, 2013). *Flavonoid* memiliki banyak struktur, dan diantara struktur-struktur tersebut, yang memiliki aktivitas antibakteri adalah *apigenin*, *galangin*, *pinocembrin*, *ponciretin*, *genkwanin*, *sophoraflavanon G* dan turunannya, *naringin* dan *naringenin*, *epigallocatechin gallate* dan turunannya, *luteolin* dan *luteolin 7-glucoside*, *quercetin*, *3-O-methylquercetin* dan beragam *Flycoside quercetin*, *kaempferol* dan turunannya, dan *flavones* lainnya seperti

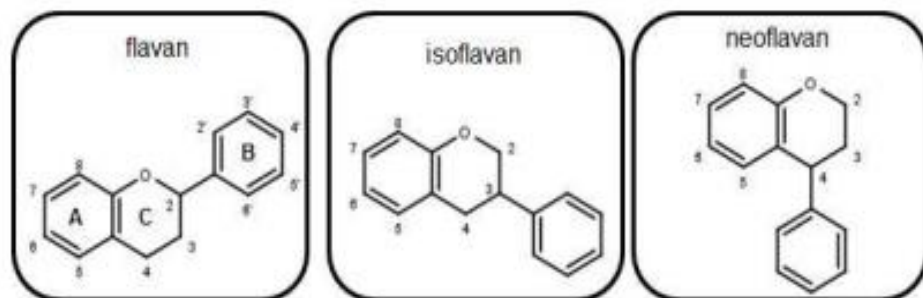
flavone glycosides, isoflavones, flavonols, flavonol glycosides dan chalcones (Cushnie dkk., 2003).

Group of flavanoid	Structure backbone	Examples
Flavones		 Luteolin Apigenin Chrysin
Flavonols		 Quercetin Kaempferol Galangin
Flavanones		 Hesperetin Naringenin
Flavanonol		 Taxifolin
Isoflavones		 Genistein Daidzein
Flavan-3-ols		 Catechin Epicatechin

Gambar 2. Fraksi *Flavonoid* pada Propolis (Kumar dan Pandey, 2013)

Semua struktur *flavonoid* memiliki *backbone structure* yang sama, yaitu C6-C3-C6 *phenyl-benzopyran*. Posisi dari phenyl ring tergantung dari ikatan *benzopyran* yang merupakan penyebab terbentuknya senyawa *flavonoid* (2-*phenyl-benzopyrans*), *isoflavonoid*

(*3-phenyl-benzopyrans*), dan *neoflavonoid* (*4-phenyl-benzopyran*) (Pinheiro dan Justino, 2012). B ring di dalam *flavonoid* diketahui membentuk ikatan hidrogen dan terikat pada asam nukleat yang mengakibatkan penghambatan sintesis DNA dan RNA bakteri (Kumar dan Pandey, 2013).



Gambar 3. Backbone structure dari flavonoid, isoflavan, dan neoflavan (Pinheiro dan Justino, 2012)

Mekanisme antibakteri *flavonol galangin* yaitu dengan cara mendegradasi membran sitoplasma sehingga menyebabkan hilangnya ion-ion potasium dan memprovokasi autolisis pada bakteri. Di dalam *Flavonoid*, fraksi *galangin*, CAPE, dan *pinocembrin* memiliki efek antibakteri yang paling tinggi (Viuda-Martos dkk., 2008).

2. *Apis Trigona*

Apis Trigona merupakan jenis lebah yang tidak memiliki sengat atau *stingless bee* sehingga *Apis Trigona* mempertahankan dirinya dengan mengerubungi makhluk hidup yang dianggap berbahaya, serta dengan menggunakan hasil produknya yang berupa propolis sebagai perlindungan bagi sarangnya. *Apis Trigona*

ditemukan di daerah tropis dan sub tropis seperti Australia, Afrika, Asia Tenggara, dan di sebagian daerah Meksiko dan Brazil. *Apis Trigona* merupakan salah satu serangga yang hidup berkelompok dan membentuk koloni (Weiss dan Vergara, 2002). *Trigona* diklasifikasikan secara taksonomi:



Gambar 4. *Apis Trigona* yang diperoleh dari Nglipar, Gunung Kidul

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Arthropoda</i>
Kelas	: <i>Insecta</i>
Ordo	: <i>Hymenoptera</i>
Subordo	: <i>Apocrita</i>
Famili	: <i>Apidae</i>
Tribe	: <i>Meliponini</i>
Genus	: <i>Trigona</i>

3. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan beberapa zat dari suatu bentuk padat atau cair dengan bantuan bahan pelarut. Ekstraksi biasanya digunakan untuk mengambil saripati dari suatu substrat (Mukhriani, 2014). Metode yang umum digunakan untuk melakukan ekstraksi yaitu dengan *Solid-Liquid Extraction* yaitu perkolasi dan imersi, serta maserasi (Pfennig dkk, 2011).

Perkolasi berasal dari kata *percolate* dalam bahasa Latin yang berarti meneteskan. Prinsip kerja perkolasi yaitu suatu bahan mentah dicampur dengan pelarut hingga pelarut tercampur bersama dengan bahan mentah kemudian diletakkan pada suatu alat bernama *Percolator* untuk menghasilkan ekstrak. *Percolator* berfungsi untuk mengalirkan tetesan dari campuran bahan mentah dengan pelarutnya ke dalam wadah yang baru (Harborne, 1998).

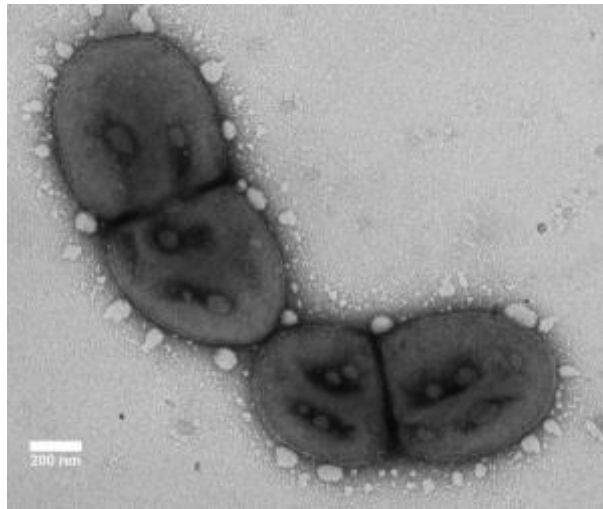
Imersi berasal dari bahasa Latin *immerge* yang berarti mencelupkan. Prinsip kerja imersi hampir sama dengan perkolasi, namun perbedaannya terletak pada cara pencampuran pelarut dengan bahan mentah. Cara yang digunakan adalah dengan mencelupkan bahan ke dalam pelarut selama beberapa menit. Selanjutnya campuran diperas hingga pelarut benar-benar terpisah (Harborne, 1998).

Maserasi berasal dari kata *maceratio* yang berarti untuk merendam. Prinsip kerja maserasi yaitu bahan mentah dimasukkan

dan dibiarkan selama beberapa hari dalam pelarut, kemudian diaduk pada setiap waktu tertentu (Harborne, 1998).

4. *Porphyromonas gingivalis*

a. Taksonomi



Gambar 5. *Porphyromonas gingivalis* (Wade, 2009)

Secara taksonomi, *Porphyromonas gingivalis* diklasifikasikan sebagai berikut (Coykendall dkk., 1980):

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Bacteroidetes</i>
Class	: <i>Bacteroides</i>
Ordo	: <i>Bacteriodales</i>
Family	: <i>Porphyromonadaceae</i>
Genus	: <i>Porphyromonas</i>
Species	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>

b. Fisiologi

Porphyromonas gingivalis merupakan bakteri Gram negatif obligat anaerob, tidak berspora, tidak mempunyai alat gerak (Mysak dkk., 2014). *Porphyromonas gingivalis* termasuk bakteri melanogenik, nonsakarolitik, dan bagian dari koloni bakteri *Black-pigmented Gram-negative anaerobes*. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* banyak ditemukan dalam *sulcus gingiva* dan plak gigi. *Porphyromonas gingivalis* tumbuh membentuk koloni berdiameter 1-2 mm, konveks, halus, dan mengkilat. Bagian tengah dari koloni *Porphyromonas gingivalis* nampak lebih gelap karena produksi *protoheme*, yaitu suatu substansi yang berdampak terhadap warna khas koloni *Porphyromonas gingivalis* (Kusumawardhani dkk., 2010).

c. Faktor Virulensi

Porphyromonas gingivalis memiliki berbagai faktor virulensi yang bersifat patogenik yang berperan dalam terjadinya penyakit. Faktor virulensi tersebut antara lain adalah Fimbriae, *cysteine protease*, kapsul, dan lipopolisakarida (Mysak dkk., 2014)

Fimbriae memiliki peranan penting dalam interaksi bakteri dan sel host. Fimbriae *Porphyromonas gingivalis* memiliki beragam aktivitas biologi, diantaranya imunogenitas, perlekatan pada berbagai protein *host*, menstimulasi sitokin dan merangsang terjadinya resorpsi tulang (Lin dkk., 2006). Fimbriae memiliki perlekatan yang sangat kuat pada sel *host* dan memiliki potensi besar menjadi virulens dengan

berinteraksi dengan bakteri lain yang membentuk biofilm (Enersen dkk., 2013)

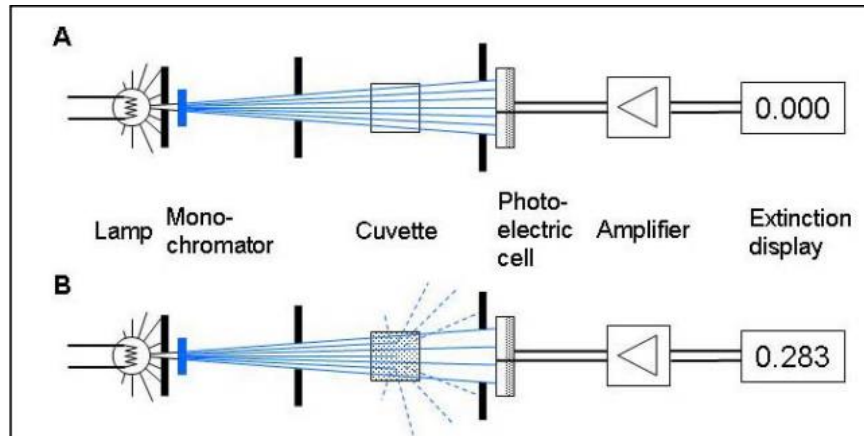
Enzim *cysteine protease* yang dihasilkan *Porphyromonas gingivalis* disebut dengan *gingipain* menjadi salah satu faktor virulensi yang penting pada proses terjadinya penyakit. *Gingipain* memiliki kemampuan untuk mendegradasi protein pertahanan host untuk menyediakan peptida dan asam amino untuk pertumbuhan bakteri tersebut (Mysak, 2014).

Kapsul yang dimiliki oleh *Porphyromonas gingivalis* memiliki fungsi sebagai perlindungan bakteri dari respon host yang memfagosit sel yang terinfeksi oleh bakteri. Selain melindungi dari respon host, kapsul pada *Porphyromonas gingivalis* juga berfungsi untuk melindungi efek bakterisidal dari antibiotik (Singh, 2011).

Porphyromonas gingivalis menghasilkan lipopolisakarida yang merupakan faktor utama penyebab terjadinya peradangan. Lipopolisakarida terdapat pada dinding sel bakteri Gram negatif. Kemampuan lipopolisakarida adalah mengaktifkan respon pertahanan inflamasi dari *host*, yang berfungsi memberi respon pada *host* jika terjadi infeksi bakteri (Wang dkk., 2002). Lipopolisakarida *Porphyromonas gingivalis* menginduksi sitokin proinflamasi, yaitu IL-1 β , IL-6, dan IL-8, yang menyebabkan kerusakan pada jaringan yang terinfeksi bakteri (Taylor dan Preshaw, 2012).

5. Spektrofotometri

Spektrofotometri merupakan metode yang dilakukan untuk melihat daya serap atau daya pencar sinar suatu oleh substansi kromogenik atau kekeruhan. Metode spektrofotometri ini dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer yang merupakan suatu alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi sinar *transmittan* dari sebuah substansi/ material sampel. Prinsip penggunaan spektrofotometer berdasarkan pada kuantifikasi pancaran sinar dengan panjang gelombang tertentu yang diterima oleh detektor setelah melalui substansi absorban atau yang dapat diterima setelah melalui tingkat kekeruhan substansi tertentu. Panjang gelombang yang dapat digunakan adalah cahaya tampak, gelombang ultraviolet, dan inframerah. Intensitas dari sinar yang menembus *photo-electric cell* kemudian ditangkap dan ditampilkan oleh detektor disebut *optical density* (OD) (Widdel, 2007). Metode pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer dinilai sederhana, cepat, spesifik, dan dapat dilakukan pada suatu komponen yang berukuran kecil (Behera dkk., 2012).



Gambar 6. Prinsip kerja spektrofotometri (Widdel, 2007)

B. Landasan Teori

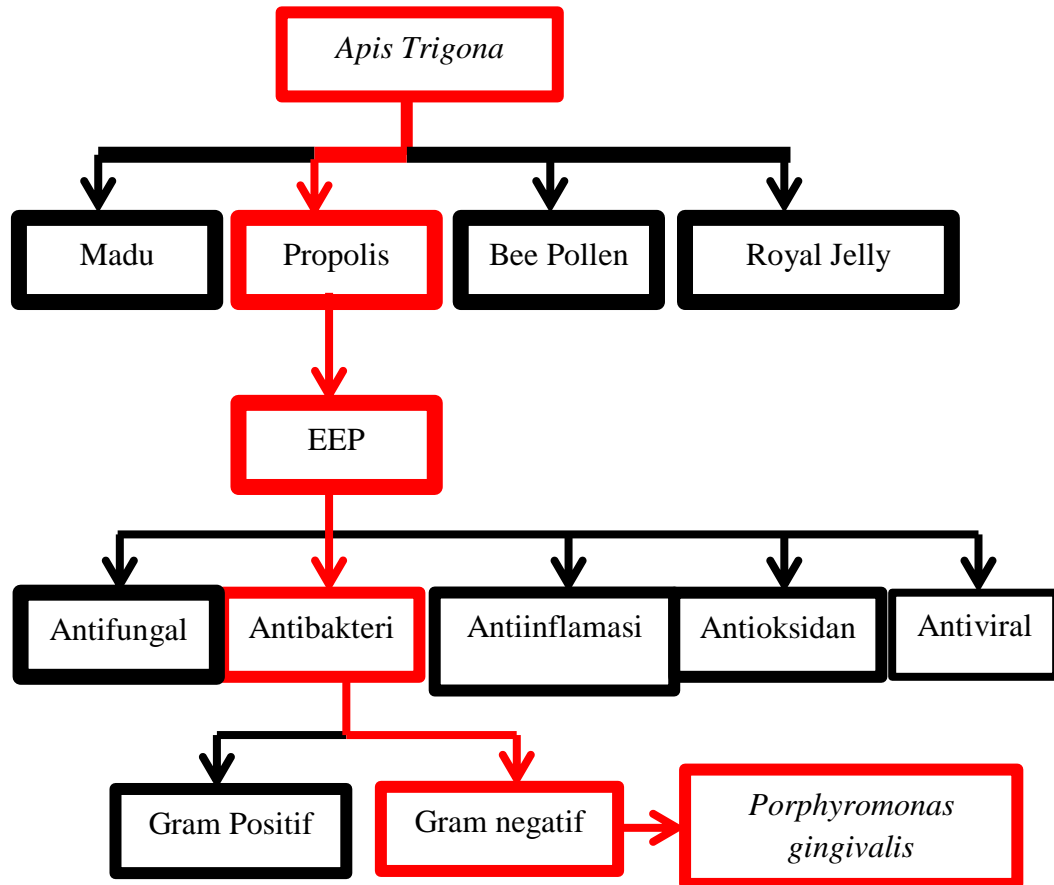
Penyakit periodontal merupakan kerusakan jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme tertentu, yang kemudian mengakibatkan kerusakan pada ligamen periodontal dan tulang alveolar. Salah satu bakteri penyebab terjadi penyakit periodontal adalah *Porphyromonas gingivalis*. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri Gram negatif obligat anaerob, dan dapat dieliminasi dengan pemberian antibiotik. Penggunaan antibiotik dengan cara yang tidak tepat, akan menimbulkan resistensi bakteri.

Sebagian besar masyarakat pada saat ini tertarik dengan penggunaan bahan-bahan herbal sebagai obat alternatif, salah satunya dengan menggunakan propolis yang merupakan produk dari lebah. Propolis mengandung berbagai kandungan senyawa kimia diantaranya adalah *flavonoid* yang memiliki banyak khasiat, salah satunya sebagai

antibakteri. *Flavonoid* dalam propolis *Apis Trigona* memiliki beberapa fraksi yang telah terbukti memiliki efek sebagai antibakteri, yaitu *galangin*, *pinocembrin*, dan CAPE.

Berdasarkan landasan teori ini peneliti ingin mengetahui daya hambat Ekstrak Etanol Propolis (EEP) terhadap laju pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*.

C. Kerangka Konsep



— : Variabel Diteliti

— : Variabel Tidak Diteliti

D. Hipotesis

Berdasarkan teori di atas didapatkan hipotesis bahwa ekstrak etanol propolis *Apis Trigona* dapat menghambat laju proliferasi bakteri *Porphyromonas gingivalis*.