



RESEARCH ARTICLE

Studi In Vitro Perbandingan Efektivitas Antibakteri Obat Kumur Nano Propolis 10% Dengan Obat Kumur Propolis Terhadap Jumlah Koloni Bakteri *Streptococcus Mutans*

¹*Wiwekowiati, ²Virtika Ayu, ³Agas Narawasistha

Bagian Ilmu Kedokteran Gigi Ortodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Mahasaraswati Denpasar

wiwekowiati11@gmail.com

ABSTRAK

Pengguna alat ortodonti sulit untuk memelihara kebersihan mulutnya selama perawatan yang menyebabkan sikat gigi tidak dapat mencapai bagian proksimal gigi. Hal ini dapat berdampak pada peningkatan jumlah bakteri yang dapat menyebabkan karies gigi. Karies gigi disebabkan akibat menumpuknya plak gigi yang mengandung bakteri *Streptococcus mutans*. Pengguna alat ortodonti dianjurkan menggunakan obat kumur setelah menggosok gigi untuk mengurangi adanya plak. Obat kumur ekstrak propolis merupakan obat kumur herbal yang saat ini beredar di pasaran. Ekstrak propolis mengandung senyawa yang bersifat antiplak antibakteri. Nanopropolis merupakan partikel propolis yang berukuran nano yang dibuat lebih efektif tanpa mengubah sifat-sifatnya dengan mengubah ukuran propolis. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan efektivitas antibakteri antara obat kumur nanopropolis dengan produk obat kumur propolis di pasaran terhadap koloni bakteri *Streptococcus mutans*. Metode penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental labotarium dengan rancangan *The Posttest-Only Control Group Design*. Penelitian ini dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu, obat kumur nanopropolis 10%, obat kumur propolis di pasaran, obat kumur Povidone iodine sebagai kontrol positif, dan aquades sebagai kontrol negatif. Uji daya hambat antibakteri menggunakan Kirby-Bauer metode *disc diffusion*. Hasil penelitian ini menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan. Rerata zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada obat kumur nanopropolis 10% adalah 0 mm (tidak membentuk zona hambat), sedangkan zona hambat yang dibentuk oleh Povidone iodine 1% adalah 6,3 mm, aquades dan obat kumur propolis di pasaran adalah 0 mm (tidak membentuk zona hambat). Kesimpulan dari penelitian ini adalah obat kumur nanopropolis dan obat kumur propolis tidak efektif dalam menghambat antibakteri *Streptococcus mutans*.

Kata Kunci: *studi in vitro*, obat kumur nanopropolis, obat kumur propolis, *Streptococcus mutans*

ABSTRACT

The patients with orthodontic appliance found that difficult to maintain oral hygiene during treatment which causes the toothbrush to be unable to reach the proximal parts of the teeth. This can have an impact on increasing the number of bacteria that can cause dental caries. Dental caries is caused by the accumulation of dental plaque containing



Streptococcus mutans bacteria. The patients with orthodontic appliance are advised to use mouthwash after brushing their teeth to reduce the presence of plaque. Propolis extract mouthwash is a herbal mouthwash that is available on the market. Propolis extract contains compounds that are antibacterial antiplaque. Nanopropolis is a nano-sized propolis particle that is made more effective without changing its properties by changing the size of the propolis with various methods. The purpose of this study was to determine the antibacterial effectiveness comparison between nanopropolis mouthwash and propolis mouthwash products on the market against *Streptococcus mutans* bacteria colonies. The research method used was experimental laboratory research with The PosttestOnly Control Group Design. This study was divided into 4 treatment groups, namely, 10% nanopropolis mouthwash, propolis mouthwash on the market, Povidone iodine mouthwash as a positive control, and distilled water as a negative control. Antibacterial inhibition test using Kirby-Bauer discs diffusion method. The results of this study showed no significant difference. The average inhibition zone for the growth of *Streptococcus mutans* bacteria in 10% concentrations of nanopropolis mouthwash was 0 mm (no inhibition zone was formed), while the inhibition zone formed by 1% Povidone iodine was 6.3 mm, distilled water and propolis mouthwash on the market was 0 mm (does not form an inhibition zone). The conclusion of this study was that nanopropolis mouthwash and propolis mouthwash were not effective in inhibiting *Streptococcus mutans* antibacterials.

Keywords: *in vitro* study, nanopropolis mouthwash, propolis mouthwash, *Streptococcus mutans*

PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut merupakan hal yang penting karena akan mempengaruhi kesehatan tubuh secara keseluruhan. Kesehatan gigi dan mulut yang tidak dijaga dapat beresiko meningkatnya penyakit atau masalah kesehatan lainnya. Gigi dan mulut yang sehat memungkinkan seseorang untuk makan, berbicara, dan berinteraksi sosial tanpa mengalami rasa sakit, gangguan estetika serta ketidaknyamanan karena adanya penyakit yang terjadi di rongga mulut. Salah satu penyakit akibat kurangnya kesadaran dalam menjaga kesehatan rongga mulut yaitu mengakibatkan terjadinya karies pada gigi. Karies merupakan salah satu penyakit di rongga mulut yang prevalensinya di Indonesia masih cukup tinggi. Karies gigi adalah suatu penyakit infeksi pada jaringan keras gigi, yaitu email, dentin dan sementum¹. Berdasarkan data Riskesdas², prevalensi karies di Indonesia adalah sebesar 88,8% dengan prevalensi karies akar sebesar 56,6% pada semua kelompok umur. Hal ini menunjukkan, prevalensi karies cenderung tinggi, yaitu di atas 70%. Prevalensi karies tertinggi terdapat pada kelompok umur 55-64 tahun (96,8%).

Sedangkan prevalensi karies akar cenderung meningkat sejalan dengan meningkatnya kelompok umur. Prevalensi karies akar tertinggi adalah pada kelompok umur 35-44 tahun, kemudian kembali menurun pada kelompok umur setelahnya¹. Faktor-faktor yang mempengaruhi terjadinya karies gigi, yaitu host, mikroorganisme,



substrat dan waktu. Host dalam hal ini adalah gigi itu sendiri dalam hal kerentanan terhadap karies, meliputi struktur gigi, anatomi gigi dan posisi gigi. Substrat merupakan konsumsi makanan mengandung karbohidrat yang menjadi sumber utama bagi metabolisme bakteri didalam rongga mulut. Mikroorganisme merupakan bakteri kariogenik yang terdapat pada rongga mulut, terutama plak gigi. Waktu merupakan frekuensi dan durasi substrat menempel dipermukaan gigi untuk menyebabkan lesi karies³.

Karies gigi disebabkan akibat terbentuknya plak. Plak gigi merupakan kumpulan mikroorganisme pada permukaan gigi yang dapat mempengaruhi sistem rongga mulut. Plak berasal dari sisa makanan yang mengandung gula, seperti roti, sereal, susu, minuman ringan, buah, kue, atau permen yang kemudian diubah oleh bakteri alami dalam mulut menjadi asam. Kombinasi antara bakteri, asam, sisa makanan yang ada di mulut, dan air liur, akan membentuk plak yang melekat pada gigi. Terdapat lebih dari 700 spesies bakteri yang berkolonisasi pada biofilm dan membentuk plak. Pada tahun 1924 Clarke menemukan bahwa *Streptococcus mutans* merupakan mikroorganisme yang paling banyak ditemukan pada plak⁴

Plak harus dicegah dengan melakukan tindakan kontrol plak, antara lain menyikat gigi, pembersihan interdental gigi, dan obat kumur. Terkadang menyikat gigi saja tidak sepenuhnya membersihkan sisa makanan di bagian sela-sela gigi yang tidak dapat dijangkau, maka dari itu setelah menyikat gigi, dianjurkan untuk memakai obat kumur. Plak jika tidak dibersihkan dapat mengalami pengerasan atau mineralisasi yang melekat pada permukaan gigi. Hal ini biasanya cepat terjadi pada pemakai alat ortodonti⁴.

Pengguna alat ortodonti cekat biasanya sering mengalami makanan yang tersangkut pada alat ortodonti. Komponen utama alat ortodonti cekat diantaranya adalah braket, band dan kawat busur. Keberadaan alat tersebut mempermudah plak berakumulasi sehingga membentuk plak dan karies gigi. Hal itu bisa menjadi salah satu akibat dari buruknya kebersihan gigi kondisi ini terjadi karena kandungan kalsium pada gigi yang berkurang. Penyebabnya berasal dari pengaruh zat asam yang diproduksi oleh bakteri-bakteri dari sisa makanan dan minuman yang terjebak diantara alat ortodonti⁵. Alat ortodonti cekat merupakan alat yang paling banyak digunakan untuk merawat maloklusi. Pemakaian alat ortodonti cekat merangsang perubahan ekologi rongga mulut dan mengubah karakteristik plak gigi. Perubahan struktur, metabolisme dan komposisi plak gigi menyebabkan peningkatan populasi mikroba, terutama *Streptococcus* sp. dan *Lactobacillus* yang dianggap sebagai bakteri yang paling berperan pada proses terjadinya karies. Maka dari itu, pengguna alat ortodonti cekat dianjurkan menggunakan obat kumur setelah menggosok gigi untuk mengurangi adanya plak akibat sisa makanan yang tertinggal di tempat yang tidak terjangkau oleh sikat gigi⁶.

Obat kumur merupakan sediaan berupa larutan untuk di aplikasikan pada mulut yang banyak beredar di pasaran. Obat kumur memiliki banyak manfaat yaitu, menyegarkan mulut, bisa menjangkau hingga ke sela-sela gigi, menghilangkan bau mulut hingga mengurangi pembentukan plak dan karies pada gigi. Kandungan obat kumur yang beredar di pasaran diantaranya adalah mengandung Chlorhexidine, povidone iodine dan fluoride dengan suplementasi zinc. Chlorhexidine dipercaya sebagai obat kumur yang mampu mengurangi pembentukan plak, menghambat pertumbuhan plak dan menjegah terjadinya penyakit periodontal. Hal ini dikarenakan sifat dari Chlorhexidine sendiri,



yaitu bakterisid dan bakteriostatik terhadap berbagai macam bakteri, termasuk bakteri yang ada di dalam plak. Fluoride dan zinc memiliki karakteristik yang mampu berkerja dengan cara menghambat metabolisme bakteri plak yang dapat menyebabkan kematian bakteri pada plak, sedangkan povidone iodine memiliki kemampuan sebagai bahan bakterisidal maupun fungsidal⁷.

Saat ini sudah banyak produk obat kumur yang megandung bahan alami yang beredar di pasaran. Obat kumur berbahan alami merupakan produk herbal sehingga jika dibandingkan dengan produk obat kumur berbahan kimia seperti chlorhexidine akan lebih aman digunakan dan tidak mengandung efek samping. Produk ini juga lebih aman seandainya tertelan terutama pada anak-anak, lanjut usia, maupun pasien dengan kebutuhan khusus. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Farah⁸ obat kumur yang mengandung chlorhexidine ini dapat menimbulkan efek samping pada penggunaan jangka panjang yaitu perubahan warna gigi, restorasi, dan membran mukosa, peningkatan pembentukan kalkulus, gangguan pengecapan, sensasi rasa terbakar, dan iritasi mukosa. Obat kumur chlorhexidine harus digunakan setelah berkumur dengan air atau 0,5 – 2 jam setelah menggunakan pasta gigi. Salah satu alternatif untuk menggantikan obat kumur chlorhexidine berupa obat kumur herbal yang saat ini beredar di pasaran yaitu obat kumur berbahan ekstrak propolis.

Propolis merupakan senyawa yang dikumpulkan oleh lebah *Trigona* sp yang merupakan suatu substansi yang mengandung resin dan lilin lebah, bersifat lengket, yang dikumpulkan dari sumber tanaman, terutama dari bunga dan pucuk daun. Lebah kemudian mencampur bahan resin ini dengan enzim yang disekresikan dari kelenjar mandibula lebah. Meskipun demikian, komponen yang terdapat di dalam propolis tidak mengalami perubahan⁹. Komposisi dalam senyawa ini yang terpenting adalah flavonoid, fenolat dan aromatic. Senyawa yang memiliki tindakan antiplak dan antibakteri adalah flavonoid. Dua mekanisme antiplak propolis, yaitu aktifitas antibakteri melawan bakteri kariogenik dan aktifitas propolis menghambat enzim glucosyltransferase, enzim glucosyltransferase dapat mengubah sukrosa saliva menjadi polisakarida ekstraseluler (PSE) melalui proses glikosilasi. Polisakarida ekstraseluler ini akan membentuk suatu matriks di dalam plak dimana bakteri lain dapat melekat¹⁰. Karies gigi dapat dihambat dengan obat kumur propolis konsentrasi 10% yang berpengaruh secara signifikan menurunkan jumlah bakteri *Streptococcus mutans* pada plak gigi pemakai ortodonti cekat¹¹.

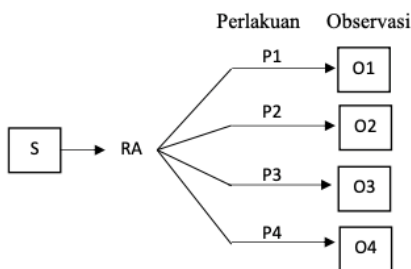
Saat ini, banyak masyarakat yang belum mengetahui tentang teknologi terbaru yaitu nanopartikel. Nanopartikel merupakan salah satu hasil teknologi nano baru yang makin pesat perkembangannya. Teknologi nano ini sudah banyak digunakan dalam bidang industri (nanokomposit, nanotubes), farmasi (pembuatan obat), dan pangan (pembuatan nano vitamin A). Propolis merupakan salah satu aplikasi untuk senyawa obat yang memiliki kelarutan yang kecil dalam air. Penggunaanya yang terbukti sebagai antibakteri dalam bentuk sediaan ekstrak dan mikro melatarbelakangi pembuatan sediaan propolis dalam bentuk nano yang akan meningkatkan luas permukaannya sehingga kemampuan untuk melarutnya pun semakin baik di dalam tubuh. Ukurannya yang nano dapat melewati membran luar bakteri sehingga senyawa-senyawa aktif antibakterinya dapat merusak dinding sel bakteri, partikel-partikel kecil propolis ini yang disebut dengan nano-propolis akan memiliki efek kerja yang lebih maksimal¹².

Nano-propolis adalah partikel propolis yang berukuran nano (berdiameter 1 – 100 nm) yang dicoba dibuat lebih efektif tanpa mengubah sifat-sifatnya dengan mengubah ukuran propolis dengan berbagai metode. Propolis tidak memiliki kelarutan yang baik dalam air. Nano-propolis akan meningkatkan kemampuan untuk melarutkan suatu zat mencapai kelarutan yang lebih baik dibandingkan dengan propolis. Nano-propolis dapat lebih mudah masuk melalui membran luar bakteri sehingga senyawa antibakteri aktif dapat merusak dinding sel bakteri¹³.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Dewangga¹⁰ dan Agustina¹¹ bahwa obat kumur propolis yang berkonsentrasi 10% lebih efektif dalam menghambat terbentuknya plak gigi yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans*. Berdasarkan uraian di atas mendorong peneliti melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui perbandingan efektivitas antibakteri antara obat kumur (teknologi) nano propolis konsentrasi 10% dengan produk obat kumur propolis di pasaran terhadap jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans*.

METODE

Metode penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian ini menggunakan rancangan pos-test dengan kelompok kontrol (*The Posttest-Only Control Group Design*) dengan skema penelitian sebagai berikut:



Tabel 1. Rancangan Penelitian Posttest-Only Control Group Design

Keterangan:

S : Sampel.

RA : Random alokasi, proses pembagian sampel menjadi 4 kelompok.

P1 : Obat kumur nanopropolis 10%

P2 : Obat kumur propolis di pasaran

P3 : Povidone iodine 1%

P4 : Akuades steril

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan termasuk kontrol positif dan kontrol negatif, yaitu sebagai berikut:

- 1) Kelompok 1 : Media agar berisi *Streptococcus mutans* ditetaskan obat kumur nanopropolis 10%.
- 2) Kelompok 2 : Media agar berisi *Streptococcus mutans* ditetaskan obat kumur propolis di pasaran.
- 3) Kelompok 3 : Media agar berisi *Streptococcus mutans* ditetaskan kontrol positif (Povidone Iodine 1%).
- 4) Kelompok 4 : Media agar berisi *Streptococcus mutans* ditetaskan kontrol negatif (Akuades steril).



Menurut Budijanto¹⁴ penentuan jumlah pengulangan ini berdasarkan rumus perhitungan pengulangan, digunakan rumus Federer sebagai berikut:

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

Keterangan: t = treatment (jumlah perlakuan) r = replication (jumlah pengulangan) 15 = derajat kebebasan umum Jumlah kelompok (t) adalah 4 $(t-1)(r-1) \geq 15$ $(4-1)(r-1) \geq 15$ $3(r-1) \geq 15$ $3r-3 \geq 15$ $3r \geq 15 + 3$ $3r \geq 18$ $r \geq 18 : 3$ $r = 6$ Berdasarkan rumus di atas peneliti menggunakan 6 kali pengulangan pada tiap kelompok perlakuan.

Populasi dari penelitian ini ialah bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Biakan murni bakteri ini didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Udayana, Bali. Sebelum digunakan bakteri diencerkan terlebih dahulu.

Pada tahap ini peneliti mendata alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian. Semua alat yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sampel propolis mentah dengan berat 1 kg disimpan di dalam freezer sebelumnya agar mudah dibersihkan. Populasi mikroorganisme uji diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Udayana dikultur ulang terlebih dahulu memperbanyak populasi mikroorganisme uji. Koloni bakteri *Streptococcus mutans* hasil biakan diambil menggunakan ose steril dan dimasukkan kedalam larutan NaCl 0,9%, kemudian dihomogenkan menjadi suspensi bakteri. Suspensi yang terbentuk disesuaikan tingkat kekeruhannya sesuai dengan standar MC Farland 0,5 (1×10^8 CFU/ml)

Mueller Hinton Agar 3,8 gr dilarutkan dalam 100 ml aquadest menggunakan Erlenmeyer. Setelah itu dihomogenkan dengan pemanas air sampai larut sempurna, media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada tekanan 121 atm selama 15 menit, kemudian diletakkan dalam waterbath pada suhu 50° C selama ± 30 menit. Setelah itu ditambahkan 5% darah kambing yang sudah steril, lalu dituangkan ke dalam cawan petri steril volume masing-masing 20–25 mL, dibiarkan pada suhu ruangan sampai memadat. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 18–24 jam. Setelah steril, media tersebut telah siap digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri.

Propolis *Trigona* Sp. mentah yang di dapat dari peternakan UD. Mutiara Bondowoso, Jawa Timur sebanyak 1 kg di maserasi menggunakan etanol 96% sampai seluruh permukaan propolis terendam dengan etanol sambil diaduk selama 3x24 jam lalu propolis blender sampai halus, kemudian disaring filtratnya. Hasil filtrat propolis diuapkan dengan alat *vacuum rotary evaporator* pemanas waterbath dengan suhu 60o - 70o C sambil terus diaduk sampai ekstrak menjadi kental. Dengan demikian menghasilkan ekstrak propolis yang murni tanpa sisa penyaring (bebas alkohol) ekstrak ditimbang dan siap digunakan untuk pembuatan *nanopropolis*

Pembuatan *nanopropolis*, dilakukan dengan menimbang 1 gr ekstrak propolis. Ekstrak propolis kemudian dilarutkan dalam 35 mL etanol 96% dicampur dengan 15 mL akuades dalam gelas beker 1000 mL, kemudian ditambahkan dengan 100 mL larutan kitosan dalam larutan asam asetat 1%. Selanjutnya secara bertahap ke dalam campuran tersebut ditambahkan 350 mL NaTPP sambil disertai pengadukan pada kecepatan yang stabil selama 2 jam. Setelah semua bahan tercampur, dilakukan pengadukan dengan *magnetic stirrer* selama kurang lebih 2 jam pada kecepatan yang stabil. Koloid *nanopartikel* kitosan dan NaTPP propolis kemudian dipisahkan dengan cara sentrifugasi.



Padatan *nanopartikel* ekstrak etanol dimasukkan dalam lemari es dengan suhu $\pm 3^{\circ}\text{C}$ sampai menjadi padatan kering¹⁵.

Pembuatan Obat Kumur Nanopropolis sebagai berikut :

- 1) Siapkan alat dan bahan.
- 2) Kalibrasi botol 100 mL, kemudian timbang masing-masing bahan.
- 3) Ekstrak nanopropolis dimasukkan ke dalam lumpang lalu tambahkan propilenglikol sambil digerus homogen (M1).
- 4) Pindahkan M1 ke dalam erlenmeyer.
- 5) Kemudian tambahkan aquadest secukupnya dan gliserin 5mL ke dalam M1 diaduk perlahan sampai homogen (M2).
- 6) Larutkan Na. Sakarin dan Na. Benzoat dengan aquadest 10 mL lalu tambahkan ke dalam M2 lalu dihomogenkan (M3).
- 7) Larutkan Menthol dengan etanol 70% lalu tambahkan ke dalam M3, aduk homogen.
- 8) Selanjutnya tambahkan aquadest hingga volume 100 mL kemudian aduk hingga homogen (M4).
- 9) Tambahkan Oleum Menthae sebanyak 0,05 mL atau setara dengan 1 tetes.
- 10) Larutan sediaan kumur yang telah dibuat dimasukkan ke dalam botol, ditutup rapat, dan disimpan di tempat yang sejuk.

Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode *disc diffusion* (Kirby- Bauer). Bakteri *Streptococcus mutans* yang digunakan didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Pembiakan bakteri *Streptococcus mutans* sebanyak 6 koloni diambil menggunakan ose steril, kemudian dioleskan di atas *Mueller Hinton Agar* (MHA) secara merata. Pertama disiapkan *blank disc* sebanyak 36 buah. Masing – masing *blank disc* ditetesi obat kumur *nanopropolis* 10% menggunakan *micro pipet* sebanyak 6 buah, obat kumur *propolis* di pasaran (*Propolinse*) 6 buah, kontrol positif dengan menggunakan obat kumur *Betadine Mouthwash And Gargle Povidone Iodine* 1% sebanyak 6 buah, dan kontrol negatif menggunakan aquades sebanyak 6 buah. Setelah itu dilanjutkan dengan pemberian bakteri *streptococcus mutans* pada media agar plate sebanyak 6 buah. Setelah itu dilanjutkan dengan menaruh *blank disc* yang sudah ditetaskan tadi di atas permukaan pada masing – masing media agar *plate*. Setelah itu dilanjutkan dengan inkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37°C.

Pengamatan dan pengukuran dapat dilakukan setelah 2 x 24 jam diinkubasi, daerah bening yang terlihat disekeliling *blank disc* menandakan adanya aktivitas antibakteri. Obat kumur nanopropolis yang digunakan dikatakan efektif apabila terlihat daerah yang dihambat oleh ekstrak tersebut. Daerah hambat diukur menggunakan jangka sorong manual dengan satuan milimeter (mm). Setelah didapatkan diameter zona hambat dari masing-masing MHA, lalu nilainya dirata-rata sehingga diperoleh diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi obat kumur nanopropolis.

HASIL

Penelitian Hasil Ekstraksi Propolis ini telah dilakukan di UPT. Laboratorium Analitik Universitas Udayana pada bulan Januari 2022. Sebanyak 1 kg propolis mentah *Trigona Sp.* dimaserasi menggunakan etanol 96% selama 3 hari sambil diaduk lalu diblender sampai halus kemudian disaring filtratnya. Hasil filtrat propolis didapatkan sebanyak 250 mL. Hasil filtrat propolis diuapkan dengan alat vacuum rotary evaporator

pemanas waterbath dengan suhu 60o C sampai ekstrak propolis menjadi kental. Hasil ekstraksi propolis didapatkan sebanyak 39 mL dengan warna coklat kehitaman dan bersifat kental dan lengket.



Gambar1. Ekstrak Propolis

Penelitian Hasil Pembuatan Nanopropolis ini telah dilakukan di UPT. Laboratorium Analitik Universitas Udayana pada bulan Januari 2022. Ekstrak propolis diambil sebanyak 1 mL kemudian dilarutkan dalam 35 mL etanol 96% dicampur dengan 15 mL akuades dalam gelas beker 1000 mL, kemudian ditambahkan dengan 100 mL larutan kitosan dalam larutan asam asetat 1%. Selanjutnya secara bertahap ke dalam campuran tersebut ditambahkan 350 mL NaTPP sambil disertai pengadukan pada kecepatan yang stabil selama 2 jam. Setelah semua bahan tercampur, dilakukan pengadukan dengan magnetic stirrer selama kurang lebih 2 jam pada kecepatan yang stabil. Koloid nanopartikel kitosan dan NaTPP propolis kemudian dipisahkan dengan cara sentrifugasi. Hasil dari pembuatan nanopropolis mendapatkan sebanyak 4,075 mL dengan warna coklat dan bersifat cair.



Gambar 2. Ekstrak Nanopropolis

Penelitian Hasil Pembuatan Obat Kumur *Nanopropolis* Konsentrasi 10% ini telah dilakukan di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Mahasaraswati Denpasar pada bulan Desember 2022. Ekstrak nanopropolis dimasukan ke dalam lumpang lalu tambahkan propilenglikol sambil digerus homogen, kemudian pindahkan ke dalam erlenmeyer. Tambahkan aquades secukupnya dan gliserin 5 mL lalu diaduk perlahan sampai homogeny. Kemudian tambahkan larutan Na Sakarin dan Na Benzoat dengan aquades 10 mL lalu dihomogenkan. Tambahkan larutan Menthol dengan etanol 70%, diaduk sampai homogen. Selanjutnya tambahkan aquades hingga volume 55 mL kemudian aduk hingga homogen. Tambahkan Oleum Menthae sebanyak 0,05 mL atau setara dengan 1 tetes. Larutan sediaan obat kumur nanopropolis yang telah dibuat dimasukan ke dalam botol, ditutup rapat, dan disimpan di tempat yang sejuk.



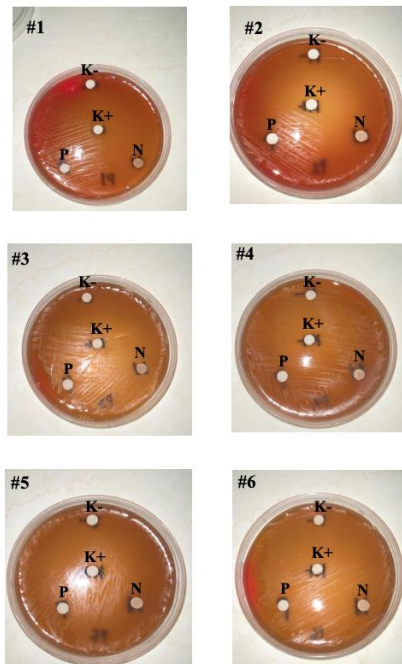
Gambar 3. Obat Kumur Nanopropolis Konsentrasi 10%

Penelitian Hasil Uji Aktivitas Antibakteri ini telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Udayana pada bulan Desember 2022. Penelitian ini menggunakan sampel koloni bakteri *Streptococcus mutans* yang telah dibiakkan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana Denpasar. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 24 sampel yaitu larutan obat kumur propolis di pasaran (Propolinse), obat kumur nanopropolis konsentrasi 10%, kontrol positif (Betadine Mouthwash and Gargle Povidone iodine 1%), kontrol negatif (aquadest) yang terdiri dari empat kelompok dan enam kali pengulangan dengan masa inkubasi 2x24 jam. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil pengukuran zona hambat dalam Milimeter (mm) disajikan dalam Tabel berikut :

Pengulangan	Lebar zona hambat (mm)			
	Obat Kumur Nanopropolis Konsentrasi 10%	Obat Kumur Propolis di Pasaran	K +	K -
I	0	0	6	0
II	0	0	7	0
III	0	0	6	0
IV	0	0	6	0
V	0	0	7	0
VI	0	0	6	0
Rata-rata	0	0	6,3	0

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambat bakteri *Streptococcus mutans*

Secara deskriptif tabel di atas menunjukkan bahwa zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* paling tinggi yaitu pada perlakuan kontrol positif dengan nilai rata-rata sebesar 6,3 mm. Pada perlakuan obat kumur propolis di pasaran, obat kumur nanopropolis konsentrasi 10% dan kontrol negatif mempunyai kemampuan yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.



Gambar 4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Disc Diffusion (Kirby Baurer)

Keterangan : P : Obat kumur propolis di pasaran (Propolinse) N : Obat kumur nanopropolis konsentrasi 10% K+ : Kontrol positif menggunakan povidone iodine 1% K- : Kontrol negatif menggunakan aquadest

Pengujian statistik pada penelitian ini tidak dapat dilakukan dikarenakan pada hasil uji daya hambat yang dilakukan pada obat kumur nanopropolis 10% dan obat kumur propolis di pasaran menunjukkan daya hambat berukuran 0 mm. Data yang diperoleh tidak dapat diuji statistik menggunakan SPSS karena akan menunjukkan hasil invalid.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan pada enam kali pengujian enam MHA menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan. Rataan zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada obat kumur nanopropolis konsentrasi 10% adalah 0 mm (tidak membentuk zona hambat), sedangkan zona hambat yang dibentuk oleh Betadine Mouthwash and Gargle povidone iodine 1% adalah 6,3 mm, akuades dan obat kumur propolis di pasaran (Propolinse) adalah 0 mm (tidak membentuk zona hambat). Zona hambat yang terbentuk akibat pengaruh obat kumur nanopropolis terhadap bakteri *Streptococcus mutans* tidak memiliki pengaruh yang signifikan bila dibandingkan dengan zona hambat yang terbentuk akibat pengaruh Betadine Mouthwash



ans Gargle povidone iodine 1%. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan diameter zona hambat yang dibentuk MHA pada enam kali pengujian. Hal ini dikarenakan metode blank disc yang digunakan memiliki kekurangan yaitu tidak bisa mengontrol banyaknya larutan yang terserap pada masing masing blank disc, sehingga membuat diameter zona hambat berbeda beda walaupun diambil dari suspensi yang sama.

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian in vivo yang dilakukan oleh Agustina¹¹ tentang pengaruh obat kumur propolis terhadap jumlah bakteri *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus* pada pemakaian alat ortodonti cekat. Jenis penelitian ini menggunakan 25 subjek penelitian yaitu pasien yang sedang dalam perawatan ortodonti dengan braket logam teknik *straightwire*. Subjek dibagi menjadi 5 kelompok yaitu, kelompok obat kumur propolis 0%, 6%, 8%, 10% dan obat kumur klorheksidin setelah itu subjek diinstruksikan untuk menggunakan obat kumur sehari dua kali, pagi dan malam selama 7 hari. Lalu dilakukan pengambilan plak sebelum dan sesudah perlakuan itu pada H-1 dan H+1. Plak ditanam pada media agar TYS20B dan MRS untuk menumbuhkan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus*. Hasil perhitungan koloni bakteri berupa selisih jumlah bakteri setelah perlakuan dan sebelum perlakuan dianalisis secara statistik dengan uji Kruskal-Wallis dan *post hoc Mann-Whitney*. Pada penelitiannya konsentrasi obat kumur propolis konsentrasi 10% berpengaruh secara signifikan menurunkan jumlah bakteri *Streptococcus mutans* pada plak gigi pemakai alat ortodonti cekat. Hasil penelitian ini juga memperlihatkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara obat kumur propolis konsentrasi 0%, 6% dan 8%, sedangkan obat kumur propolis konsentrasi 10% terdapat perbedaan yang bermakna dengan semua obat kumur propolis yang lain, dan tidak terdapat perbedaan dengan klorheksidin. Hal ini kemungkinan berhubungan dengan metode penelitian yang dilakukan Agustina berbeda terhadap metode penelitian ini.

Penelitian yang dilakukan oleh Prasetyorini¹⁶ memiliki hasil yang sama dengan penelitian ini dimana hasil uji zona hambat antibakteri nanopropolis konsentrasi 10% tidak membentuk zona hambat. Metode penelitian ini dengan cara membiakan bakteri *Streptococcus mutans* ke dalam media Mueller Hinton Agar (MHA) disertai dengan meletakkan blank disc yang diberi larutan nanopropolis 10%, nanopropolis 5%, nanopropolis 2,5%, kontrol positif (Chlorhexidine gluconate 0,2%) dan kontrol negatif (akuades) lalu diinkubasi selama 24 jam.

Aktivitas antibakteri nanopropolis lebih disebabkan komposisi dari propolis yang digunakan. Komposisi propolis sendiri sangat dipengaruhi oleh jenis dan umur tumbuhan, iklim dan waktu dimana propolis tersebut diperoleh¹⁷. Keragaman jenis tumbuhan asal resin merupakan faktor utama yang menimbulkan perbedaan komposisi senyawa kimia yang terdapat dalam propolis. Perbedaan komposisi senyawa kimia menimbulkan perbedaan warna dan aroma pada jenis propolis yang berbeda. Aroma yang tercium merupakan aroma senyawa aromatis yang bersifat volatil yang terkandung dalam propolis. Berdasarkan beberapa penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan komposisi senyawa propolis tergantung daerah asal propolis¹⁸.

Tidak adanya daya hambat dipengaruhi juga oleh konsentrasi yang digunakan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Milah¹⁹ dikatakan bahwa propolis 100% mempunyai daya hambat yang sedang karena diameter zona hambat yang terbentuk adalah 19,76 mm, propolis dengan konsentrasi 50% mempunyai daya hambat lemah yaitu



dengan diameter zona hambat 10,9 mm, sedangkan propolis 25% dan 12,5% tidak memiliki daya hambat terhadap *Streptococcus pyogenes* karena diameter zona hambat yang terbentuk kurang dari 10 mm. Berdasarkan hasil uji yang dilakukan maka dapat dikatakan bahwa propolis dengan konsentrasi rendah mempunyai daya hambat yang lemah, dan semakin tinggi konsentrasi propolis semakin luas pula zona hambat yang terbentuk yang berarti bahwa propolis mempunyai daya hambat semakin kuat terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*.

Faktor lainnya yang dapat menghambat aktivitas antibakteri nanopropolis yaitu karena bakteri mengandung sejumlah besar lipoprotein, lipopolisakarida dan lemak. Adanya lapisan-lapisan dinding sel pada bakteri tersebut mempengaruhi aktivitas kerja dari zat antibakteri. Bakteri *Streptococcus mutans* merupakan bakteri gram positif. Bakteri gram positif dan negatif memiliki jenis dinding sel yang berbeda. Hal ini mempengaruhi keefektifitasan antibakteri terhadap bakteri. Bakteri gram positif memiliki dinding sel peptidoglikan yang lebih tebal²⁰. Dengan ini antibakteri akan lebih susah untuk memasuki dinding sel bakteri dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Keberadaan asam teikoat pada bakteri gram positif yang juga menghambat aktivitas antibakteri karena ada gugus fosfat dalam strukturnya²¹.

Pertumbuhan zat antibakteri juga dapat terganggu oleh komponen fenol. Fenol memiliki kemampuan untuk mendenaturasikan protein dan merusak membran sel. Menurut Purwanti²², mekanisme kerja senyawa tannin dan fenol dalam menghambat sel bakteri, yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri, menghambat fungsi selaput sel (transport zat dari satu sel ke sel lain) yang menghambat sintesis asam nukleat sehingga pertumbuhan bakteri dapat terhambat.

Waktu untuk inkubasi juga mempengaruhi hasil daya hambat aktivitas antibakteri nanopropolis. Lama waktu yang digunakan untuk menginkubasi bakteri akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri tersebut secara makroskopis dan mikroskopis. Biakan bakteri pada kondisi inkubasi yang lama atau diatas waktu optimum yang diperlukan oleh bakteri untuk tumbuh akan mempengaruhi morfologi bakteri secara mikroskopis²³. Pada penelitian ini waktu yang digunakan sebagai masa inkubasi 2x24 jam. Menurut penelitian Magani²⁴ dalam percobaannya selama 3x24 jam hasil daya hambat bakteri mengalami kenaikan seiring bertambahnya waktu. Hasil akan terlihat setelah lebih lama berada dalam inkubator. Meski beberapa penelitian menyebutkan tidak ada pengaruh dari kenaikan waktu inkubasi dengan aktivitas antibakteri yang idealnya hanya 18 – 22 jam²⁵.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan sebagai berikut:

- 1) Obat kumur nanopropolis 10% dan obat kumur propolis di pasaran tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.
- 2) Faktor-faktor penyebab nanopropolis tidak memiliki daya hambat dalam pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, yaitu: komposisi, jenis tumbuhan, iklim dan waktu dimana propolis tersebut diperoleh, konsentrasi uji nanopropolis terlalu kecil, kurangnya masa inkubasi saat percobaan dikarenakan *Streptococcus mutans* adalah bakteri gram positif yang memiliki dinding sel yang lebih tebal. Selain itu, kemungkinan metode penelitian



yang digunakan kurang tepat sehingga terjadi perbedaan hasil dengan penelitian terdahulu oleh Agustina¹¹.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fatmawati, D. W. A., 2015, 'Hubungan biofilm Streptococcus mutans terhadap resiko terjadinya karies gigi', STOMATOGNATIC-Jurnal Kedokteran Gigi, 8(3) : 127-130.
2. Kemenkes RI. Laporan Nasional Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Indonesia tahun 2018. Riset Kesehatan Dasar 2018; 2018. 179-342
3. Gani, B.A., Tanzil, A., Mangundjaja, S., 2006, Aspek Molekuler Sifat Virulensi Streptococcus mutans. Journal of International Dental and Medical Research, 13(2): 107-114.
4. Kasuma, Nila., 2016, Plak Gigi. Padang : Andalas University Press Kurniawati, D., 2011, Uji Aktivitas Antibakteri Propolis Trigona Spp. Asal Bukit Tinggi pada Tikus Putih Sprague-Dawle, Jurnal Progres Kimia Sains, 1(1), p. 210546.
5. Zulfan, (2014). Pengaruh Maloklusi terhadap Kesehatan Mulut pada Remaja di Sekolah Menengah Atas. *Jurnal Ortodonti Indonesia*, 3(2), pp.123-130.
6. Sukontapatipark, W., el-Agroudi, M. A., Atkinson, D. R., Van Noort, R., & Worthington, H. V. (2001). Microleakage and bond strength of resin-modified glass-ionomer cement lining materials. *American Journal of Dentistry*, 14(3), 163-167.
7. Betadion, R., Seno P., Teguh, W., 2014, Daya antibakteri obat kumur chlorhexidine, povidone iodine, fluoride suplementasi zinc terhadap, Streptococcus mutans dan Porphyromonas gingivalis, 47(4) : 211-214.
8. Farah CS, McIntosh L, McCullough MJ. Mouthwashes. *Australian Prescriber*. 2009; 31 (6):162-164.
9. Chalid, M., 2012, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Propolis Trigona Sp Asal Cibubur Menggunakan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2 Picrylhydrazil).
10. Dewangga, Y., 2014, Pengaruh Berkumur Dengan Propolis Konsentrasi 5%, 10%, & 15% Dalam Menghambat Terbentuknya Plak Gigi Pada Mahasiswa Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta Angkatan 2010.
11. Agustina, A., Heryumani, S. & Cendrawasih, F., 2018, Pengaruh Obat Kumur Propolis Terhadap Jumlah Bakteri Streptococcus Mutans Dan Lactobacillus Pada Pemakai Alat Ortodonti Cekat, 9(1) : 1-5.
12. Hasan Afrouzan, Amirinia, C., Mirhadi, S., Ebadollahi, A., Vaseji, N., & Tahmasbi, G. (2012). Evaluation of antimicrobial activity of propolis and nanopropolis against Staphylococcus aureus and Candida albicans. *African Journal of Microbiology Research*, 6, 421-425. doi:10.5897/AJMR11.1183.
13. Seven, I., Baykalir, B. G., Mutlu, S. I. & Salem, A. Z. M., 2018, Nanotechnology and nano-propolis in animal production and health: an overview.
14. Budijanto, 2013. "Penggunaan Rumus Federer dalam Perhitungan Pengulangan Eksperimental". *Jurnal Statistik dan Penelitian Eksperimental*, 15(2), pp. 123-130.
15. Kurniasari, D., & Atun, S. (2017). Pembuatan dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) pada Berbagai Variasi Komposisi Kitosan dengan Metode Gelasi Ionik. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 1(3), 29-33.



16. Prasetyorini, A. E., Zainal Hasan, & Rofiqoh Siregar. (2022). Penerapan teknologi nanopartikel propolis *Trigona* spp asal Bogor sebagai antibakteri *Escherichia coli* secara in-vitro. *Ekologia: Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*, 11(1), 237. doi:10.33751/ekol.v11i1.237.
17. Sabir, A., Tabbu, C.R., Agustiono, P., & Sosroseno, W. (2005). Histological analysis of rat dental pulp tissue capped with propolis. *Journal of Oral Science*, 47(3), 135-138.
18. Salatino, A., Teixeira, Érica. W., Negri, G. & Message, D., 2005, 'Origin and chemical variation of Brazilian propolis', *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2(1), h. 33–38. doi: 10.1093/ecam/neh060.
19. Milah, N., Bintari, S. H. & Mustikaningtyas, D., 2016, 'Pengaruh konsentrasi antibakteri propolis terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* secara in vitro', *Life Science*, 5(2), h. 95–99.
20. Goy, R. C., Morais, S. T. B. & Assis, O. B. G., 2016, 'Evaluation of the antimicrobial activity of chitosan and its quaternized derivative on *E. Coli* and *S. aureus* growth
21. Rohde, M., 2019, *The Gram-Positive Bacterial Cell Wall*, *Microbiology Spectrum*. doi: 10.1128/microbiolspec.gpp3-0044-2018. Rowe, R. C.,
22. Purwanti, E., 2007, 'Senyawa bioaktif tanaman sereh (*Cymbopogon nardus*) ekstrak kloroform dan etanol serta pengaruhnya terhadap mikroorganisme penyebab diare.', Jurusan Pendidikan Biologi. Fakultas Pendidikan Biologi dan Ilmu Pendidikan. Universitas Muhammadiyah Malang.
23. Adawiyah, L., Diarti, M. W. & Tatontos, E. Y., 2020, 'Pengaruh Lama Waktu Inkubasi Terhadap Morfologi Bakteri *Neisseria gonorrhoeae*', *Jurnal Kesehatan Poltekkes Kemenkes Ri Pangkalpinang*, 7(2), h. 36. doi: 10.32922/jkp.v7i2.83.
24. Magani, A. K., Tallei, T. E. & Kolondam, B. J., 2020, 'Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.', *Jurnal Bios Logos*, 10(1), h. 7. doi: 10.35799/jbl.10.1.2020.27978.
25. Swenson, J. M., Tenover, F. C. & Group, C. D. S., 2005, 'Results of disk diffusion testing with cefoxitin correlate with presence of *mecA* in *Staphylococcus* spp', *Journal of clinical microbiology*, 43(8), h. 3818– 3823. doi: 10.1128/JCM.43.8.3818-3823.2005.