

Daya Antimikrobia Sarang Lebah Madu *Trigona* spp terhadap Mikrobia Patogen

RENITA YULIANA^{1*}, ENDANG SUTARININGSIH², HARRY BUDI SANTOSO³,
KRESNO AGUS HENDARTO³, SEPTIANTINA DYAH RIENDRASARI³

^{1,2}Program Pascasarjana Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada

²Professor Mikrobiologi Universitas Gadjah Mada

³Balai Penelitian Teknologi Hasil Hutan Bukan Kayu Mataram

*email: tata_renjuly@ymail.com

Manuscript received: 14 Desember 2014 Revision accepted: 25 Januari 2015

ABSTRACT

Potensi sarang lebah madu *Trigona* spp untuk menghasilkan antimikrobia sangat tinggi, tidak hanya pada bagian propolis, melainkan keseluruhan bagian dari sarang yang terdiri dari kantong madu, kantong polen, kantong telur, dan penutup sarang. Sarang lebah madu *Trigona* spp berfungsi sebagai tempat perlindungan lebah dari predator maupun parasit seperti fungi, jamur dan virus. Sarang lebah madu *Trigona* spp dapat dijadikan alternatif sumber antimikrobia alami sehingga diperlukan penelitian untuk mendeteksi aktivitas tersebut. Tujuan dari penelitian ini meneliti daya antimikrobia yang dilepaskan sarang lebah madu *Trigona* spp terhadap pertumbuhan mikrobia dan meneliti komponen kimia utama yang terkandung dalam sarang lebah madu *Trigona* spp. Metode untuk ekstraksi sarang menggunakan ethanol 70% secara maserasi dan uji antimikrobia yang terdiri dari antibakteri dan antifungi dilakukan dengan metode difusi sumur. Rancangan penelitian yang digunakan dalam bentuk rancangan acak lengkap (RAL). Data yang diperoleh dari hasil pengamatan di laboratorium dianalisis dengan menggunakan statistik parametrik yaitu *One way ANOVA*. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antimikrobia sarang lebah madu *Trigona* spp berpengaruh menghambat pertumbuhan mikrobia patogen uji dengan konsentrasi hambat minimal 1% (v/v). Senyawa kimia utama sebagai antimikrobia berasal dari asam lemak dan fenol.

Keywords: antimikrobia, sarang lebah, *Trigona* spp, mikrobia patogen

LATAR BELAKANG

Produk peternakan *Trigona* spp yang telah banyak dimanfaatkan adalah madu dan propolis. Propolis merupakan bagian dari sarang lebah madu *Trigona* spp yang terdiri dari senyawa yang merupakan bahan resin kompleks yang dihasilkan oleh lebah madu dari eksudat tanaman (Selvan&Prabhu, 2010). Penelitian sebelumnya tentang propolis atau penutup sarang yang merupakan bagian dari sarang lebah madu *Trigona* spp membuktikan bahwa propolis memiliki potensi sebagai sumber antimikrobia seperti aktivitas antibakteri mampu menghambat pertumbuhan *Campylobacter* spp (Fatoni *et al.*, 2008).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mendapatkan antimikrobia alami dari hasil peternakan *Trigona* spp selain propolis, salah satunya adalah sarang lebah. Sarang lebah merupakan tempat perlindungan bagi koloni lebah dari serangan bakteri, jamur, virus maupun predator, serta sebagai tempat produksi madu, *bee pollen*, dan tempat tumbuh kembang telur lebah. Kondisi sarang lebah sangat mempengaruhi kualitas madu dan yang dihasilkan. Madu pada umumnya terbebas dari mikrobia patogen. Penurunan kualitas madu dan bahkan tidak layak untuk dikonsumsi disebabkan oleh keberadaan bakteri tertentu dan didominasi oleh *Bacillus sp* pada sarang lebah (Perez *et al.*, 2013).

Potensi sarang lebah madu *Trigona* spp sebagai sumber antimikrobia sangat menarik untuk diteliti, karena

sebagai akibat dari keberadaan antimikrobia tersebut kualitas madu dan kesterilan sarang dapat terjaga. Kandungan senyawa pada sarang lebah madu berfungsi sebagai pelindung dan penentu kualitas madu antara lain flavonoid yang merupakan senyawa fenol alami dan *bees wax* (Ra'ed J *et al.*, 2008). Berdasar kandungan senyawa tersebut, bagian sarang lebah madu *Trigona* spp telah diteliti dan digunakan sebagai antibakteri *Streptococcus mutans* (Sabir, 2005). Bagian sarang lebah madu *Trigona* spp yang berpotensi sebagai antimikrobia tidak hanya terdapat pada bagian penutup sarang atau propolis, melainkan terdapat pula pada bagian kantong polen, kantong madu, dan kantong telur. Bagian dari sarang lebah madu memiliki komponen senyawa yang berbeda sebagai agen antimikrobia.

Jenis antimikrobia yang dihasilkan sarang lebah madu termasuk kelompok antibiotik tetrasiklin, streptomisin, sulfonamid, tylosin, erytromisin, lincomisin, dan kloramfenikol (Reybroeck *et al.*, 2012). Hal tersebut menunjukkan bahwa sarang lebah madu berpotensi digunakan sebagai antibiotik untuk menekan sampai mematikan berbagai macam bakteri patogen sehingga kualitas madu terjaga. Senyawa agen antimikrobia sarang lebah madu *Trigona* spp dapat dijadikan sebagai sumber antimikrobia alami yang berasal dari alam.

Keunikan dari sarang lebah madu *Trigona* spp adalah selalu dalam kondisi steril. Hal ini disebabkan karena adanya senyawa antimikrobia yang terkandung didalamnya. Senyawa-senyawa yang terkandung dalam

sarang lebah madu *Trigona* spp yang berpotensi sebagai antimikrobia alami dapat digunakan sebagai bahan pengobatan alternatif alami disamping adanya jenis obat antibiotik komersial yang beredar dipasaran. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antimikrobia yang dilepaskan sarang lebah madu *Trigona* spp terhadap pertumbuhan mikrobial dan meneliti komponen kimia yang terkandung dalam sarang lebah madu *Trigona* spp sebagai sumber agen antimikrobia.

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya, misalnya yang dilakukan oleh Sabir (2005) dan Fatoni *et al* (2008) yang memfokuskan pada bagian propolis atau penutup sarang yang merupakan salah satu bagian dari sarang lebah madu *Trigona* spp serta Andualem (2013) yang memfokuskan madu sebagai agen antimikrobia. Penelitian ini memfokuskan pada bagian keseluruhan sarang lebah madu *Trigona* spp yang terdiri dari kantong madu, kantong polen, kantong telur, dan penutup sarang sebagai agen antimikrobia. Penelitian ini juga memfokuskan pada mikrobial yang mendominasi sarang lebah madu *Trigona* spp.

METODE

Sampel yang digunakan untuk penelitian adalah sarang lebah *Trigona* spp yang terdiri dari kantong madu, kantong polen, kantong telur dan penutup sarang diambil saat panen madu sebagai sumber antimikrobia. Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling* dengan kriteria jumlah stup lebih dari 100, produksi tinggi, dan budidaya yang dilakukan lebih dari 10 tahun.

Lokasi pengambilan sampel di Kabupaten Lombok Barat, Kabupaten Lombok Timur, dan Kabupaten Lombok Utara. Sampel diambil pada bulan November 2014. Kondisi lingkungan tempat pengambilan sampel, sarang lebah madu *Trigona* spp ternaungi dari paparan sinar matahari dengan suhu antara 30-32°C dan kelembaban antara 63-65%.

Sample Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: sarang lebah *Trigona* spp, mikrobial uji yang digunakan adalah kultur murni *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans* yang berasal dari Rumah Sakit Provinsi Nusa Tenggara Barat.

Media pertumbuhan mikrobial uji. Media *Nutrient Agar* (NA) untuk pertumbuhan isolat bakteri uji, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan komposisi (g/L) berupa *beef extract* 3 g, pepton 5 g, dan agar 15 g. Media *Peptone Glucose Yeast Extract Agar* (PGYA), dengan komposisi (g/L) berupa pepton (Oxoid) 5 gram/L, *yeast extract* (Oxoid) 5 gram/L, glukosa (Difco) 5 gram/L, dan agar 16 gram/L. Media dasar untuk uji antimikrobia adalah *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan pH 7,3 ±0,1 pada suhu 25°C, dengan komposisi (g/L) berupa *beef extract* (300 g), *casein hidrolisate* (17,5 g), amilum (1,5 g), dan agar (17 g). Media untuk uji antifungi adalah media *Peptone Glucose Yeast Extract Agar* (PGYA), dengan komposisi (g/L) berupa pepton 5 gram/L, *yeast extract* 3 gram/L, glukosa 5 gram/L, dan agar 20 gram/L. Sterilisasi media dengan

autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit (Atlas, 2010). Antimikrobia pembanding yang digunakan untuk uji antibakteri adalah tetrasiklin 500 mg. Antimikrobia pembanding yang digunakan untuk uji antifungi adalah ketoconazole 200 mg.

Senyawa kimia yang dibutuhkan untuk ekstraksi adalah etanol 70% sebanyak 2 L dan propilen glikol (Merck) sebanyak 50 mL. Senyawa uji C total 10 mL K₂Cr₂O₇ 1 N, H₂SO₄ 96% 7,5 mL, dan akuades 200 mL. Senyawa uji fenol adalah acetone nitril 70% 14 mL dan standar fenol 0,25%. Senyawa uji komponen kimia sebagai agen antimikrobia alkohol 99%, gas helium, crossbond 5% dyhenyl, 95% dimethyl polysiloxane.

Prosedur kerja dalam penelitian di Laboratorium meliputi: ekstraksi Sarang lebah Madu *Trigona* spp dengan metode maserasi. Sarang lebah yang masih segar terdiri dari kantong madu, kantong polen, kantong telur, dan penutup sarang masing-masing sebanyak 25 g dan sarang lebah madu utuh terdiri dari kantong madu, kantong polen, kantong telur, dan penutup sarang dicampur sebanyak 25 g. Bagian masing-masing sarang lebah dipotong-potong, kemudian dihaluskan dengan penambahan pelarut etanol 70% sebanyak 250 ml (perbandingan antara sampel:pelarut yaitu, 1:10) (Pujirahayu, *et al.*, 2014). Sarang lebah yang sudah dihaluskan dengan pelarut etanol 70% disimpan selama 24 jam (Selvan dan Prabhu, 2010) dengan diletakkan diatas shaker pada suhu 40°C dan dihindarkan dari cahaya. Campuran sarang lebah dengan etanol 70% yang sudah didiamkan selama 24 jam disaring dengan penyaring dan corong steril untuk memisahkan filtrat dari endapan/ampas ke dalam erlenmeyer, kemudian diuapkan hingga mengering. Sisa/ ampas sarang lebah madu *Trigona* spp diekstraksi kembali sampai pelarut alkohol tidak berwarna (bening). Ekstrak sarang lebah madu *Trigona* spp yang telah diperoleh ditambahkan propilen glikol dengan perbandingan 1:1 yang akan digunakan sebagai sampel uji antimikrobia.

Analisis Kimia Sarang Lebah Madu *Trigona* spp yaitu, menguji pH sampel sarang lebah madu *Trigona* spp diukur menggunakan pH meter. Analisis karbon (C) total Sarang Lebah Madu *Trigona* spp menggunakan metode Walkley & Black (Rahmayanti *et al.*, 2013). Sarang lebah madu sebanyak 0,05 gram dicampur dengan 10 mL K₂Cr₂O₇ 1 N dan 7,5 mL H₂SO₄ 96%, kemudian dipanaskan diatas *waterbath* selama 2 jam. Campuran tersebut diencerkan menggunakan akuades sampai dengan tanda batas labu 100 mL, mendiamkan campuran selama 24 jam. Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer pada λ 561 nm. Blangko dibuat dengan reagen yang sama tanpa penambahan sampel.

Perhitungan kadar C-total=

$$C (\%) = \left(\left(\frac{\text{absorbance sampel}}{\text{rata - rata absorbance standar}} \right) \times \text{rata - rata PPM standar} \right)$$

Analisis Fenol Sarang Lebah Madu *Trigona* spp dengan HPLC. Sampel sarang lebah madu sebanyak 2 g ditambah 14 mL acetone nitril 70%, kemudian didiamkan 24

jam. Sampel disaring menggunakan kertas saring (Whatmann No.41) dan penyaring PVDF (Milipore). Pengukuran kadar fenol menggunakan HPLC.

Perhitungan kadar fenol:

$$\text{Kadar Fenol (\%)} = \frac{\left(\frac{\text{Luas area sampel}}{\text{Luas area standar}}\right) \times \% \text{ standar} \times 14}{\text{berat sampel}}$$

Analisis komponen sarang lebah madu *Trigona spp* menggunakan metode *gas chromatography-mass spectrometry* (GCMS). Sampel sarang lebah madu sebanyak 1 g diekstraksi menggunakan alkohol absolut selama 24 jam. Volume sampel yang digunakan untuk analisis GC-MS sebanyak 1 µL (Kumar *et al.*, 2009). Fase gerak yang digunakan berupa gas helium dengan eluen Crossbond 5% diphenyl, 95% dimethyl polysiloxone.

Deteksi daya antimikrobia sarang lebah

Pemurnian Kultur Bakteri

Biakan murni *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dari Rumah Sakit Provinsi Nusa Tenggara Barat sebagai model dimurnikan dengan cara atau teknik kultur sel tunggal dengan teknik goresan kembali pada media NA, sedangkan *Candida albicans* ditumbuhkan pada media PGYA, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Koloni *yeast* atau bakteri yang tumbuh terpisah diambil 1 ose dan dipindahkan ke media NA miring dan PGYA miring sebagai kultur murni.

Uji Daya Antimikrobia Sarang Lebah Madu *Trigona spp* terhadap mikroba patogen

Preparasi inokulan uji dengan cara menginokulasikan 1 ose kultur murni mikrobia kedalam NaCl 0,9% kemudian divortex hingga homogen. Biakan sebanyak 50 µl diambil untuk uji antimikrobia. Uji daya antimikrobia sarang lebah dilakukan dengan menggunakan metode difusi (Jawetz *et al.*, 2010). Suspensi sel mikrobia uji sebanyak 50 µl diinokulasikan pada media MHA dan PGYA (ketebalan 0,5 cm (20 mL)) secara taburan (*pour plate*). Media dilubangi untuk membuat sumuran dengan diameter 7 mm sebagai tempat ekstrak sarang lebah. Sebanyak 100 µl sampel sarang lebah dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran, inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pertumbuhan mikrobia diamati terutama yang tumbuh disekitar sumuran, apabila terbentuk zona bening disekitar sumuran maka hasil dinyatakan positif. Pengamatan terbentuknya zona bening diukur menggunakan jangka sorong.

Analisis Konsentrasi Hambat dan Bunuh Minimum

Uji konsentrasi hambat minimum dan uji konsentrasi bunuh minimum menggunakan metode difusi pada media MHA dan PGYA dengan ketebalan 0,5 cm (20 mL). Uji KHM dan KBM dilakukan menggunakan ekstrak yang telah diperoleh pada konsentrasi 1% sampai dengan 10%. Kontrol positif yang digunakan larutan baku tetrasiklin 500 mg produksi kimia farma untuk bakteri dan ketoconazole 200 mg produksi OGB dexa untuk yeast. Isolat uji diinokulasikan kedalam media sebanyak 50 µl secara *pour plate*. Media yang telah diinokulasikan

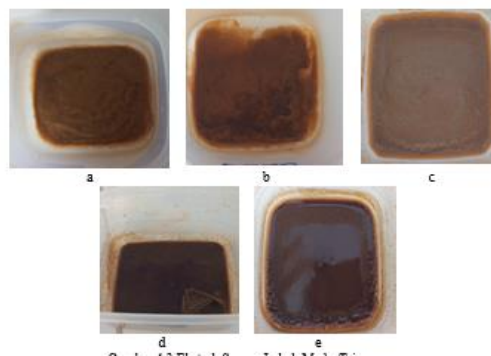
suspensi mikroba dilubangi dengan diameter 7 mm. Sumuran pada media digunakan untuk memasukkan sampel sarang lebah dengan konsentrasi yang berbeda sebanyak 100 µl. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan terbentuknya zona bening diukur menggunakan jangka sorong.

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan di laboratorium dianalisis dalam bentuk Rancangan Acak lengkap (RAL). Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA (*Analysis of Variance*) dengan tingkat kepercayaan 95% dan taraf α 0,05.

HASIL DAN PEMBAHASAN

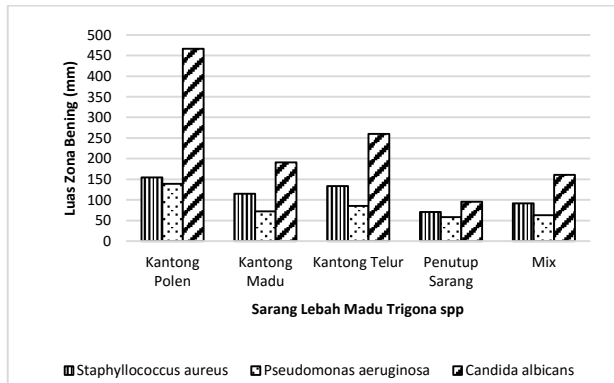
Metode ekstraksi sarang lebah madu *Trigona spp* menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah alkohol 70% yang merupakan pelarut semipolar yang dapat mengekstraksi senyawa dengan kepolaran rendah. Ekstraksi propolis menggunakan alkohol 70% menghasilkan rendemen yang paling tinggi (Pujirahayu *et al.*, 2014; Selvan&Prabhu, 2010). Alkohol memiliki titik didih yang rendah dan mudah untuk menguap, sehingga dapat memperkecil tercampurnya alkohol dalam ekstrak. Penggunaan alkohol 70% dapat melarutkan sarang lebah madu *Trigona spp*, dan memperkecil terlarutnya lilin/ wax (*beeswax*) yang merupakan pengganggu dalam ekstraksi (Pujirahayu *et al.*, 2014). Penggunaan propilen glikol sebagai pelarut ekstrak karena propilen glikol dapat melarutkan ekstrak sarang lebah madu *Trigona spp* dan tidak memiliki kemampuan sebagai agen antimikrobia.

Ekstrak sarang lebah madu *Trigona spp* berwarna coklat hingga coklat tua dan berbentuk pasta (gambar 1) dengan pH antara 4-5. Warna ekstrak dipengaruhi oleh adanya senyawa fenolik dan flavonoid. Rendemen hasil ekstraksi sarang lebah madu *Trigona spp*, yaitu kantong polen 47,8%, kantong madu 49,74%, kantong telur 40,92%, penutup sarang 39,05%, dan campuran keseluruhan sarang (mix) 42,74%. Hasil ekstraksi sarang lebah madu *Trigona spp* tidak lebih dari 50% karena kandungan lilin/ wax yang tinggi yang memiliki kadar karbon tinggi, yaitu kantong polen 29,54%, kantong madu 37,69%, kantong telur 18,85%, penutup sarang 26,56%, dan campuran keseluruhan sarang (mix) 33,33%.



Gambar 4.3 Ekstrak Sarang Lebah Madu *Trigona spp* (a) Ekstrak kantong madu, (b) ekstrak kantong polen, (c) ekstrak kantong telur, (d) ekstrak penutup sarang, dan (e) ekstrak sarang lebah madu keseluruhan

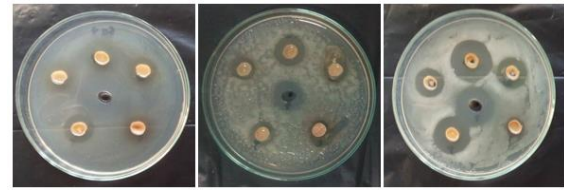
Sarang lebah madu *Trigona* spp memiliki kemampuan dalam menghambat dan membunuh mikrobia uji yaitu *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*. Luas zona bening yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 1. Aktivitas antimikrobia terbesar terdapat pada kantong polen dan aktivitas terkecil terdapat pada penutup sarang, jika dilihat dari terbentuknya zona bening. Kantong polen memiliki daya penghambatan yang lebih tinggi terhadap *Candida albicans* dibandingkan penghambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.



Gambar 1. Luas Zona Bening Uji Antimikrobia Sarang Lebah Madu *Trigona* spp

Hasil analisis statistika menunjukkan sarang lebah madu *Trigona* spp berpengaruh terhadap pertumbuhan mikrobia uji (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*). Hasil uji konsentrasi hambat minimum sarang lebah madu *Trigona* spp terhadap mikrobia uji yang diperoleh menunjukkan nilai KHM yang diperoleh yaitu 1% (v/v), artinya konsentrasi sarang lebah madu *Trigona* spp 1% mampu menghambat pertumbuhan mikrobia patogen uji. Penentuan nilai KHM berfungsi untuk menentukan konsentrasi terendah dari ekstrak sarang lebah madu *Trigona* spp dalam menghambat pertumbuhan mikrobia patogen uji. Konsentrasi hambat minimum dipengaruhi oleh banyaknya senyawa aktif sebagai agen antimikrobia. Bagian sarang lebah madu *Trigona* spp konsentrasi 1% yang memiliki luas zona hambat terkecil terdapat pada penutup sarang, yaitu 63,16 mm.

Berdasarkan hasil zona bening/ zona hambat yang terbentuk, dapat disimpulkan bahwa sarang lebah madu *Trigona* spp memiliki potensi sebagai antimikrobia alami untuk menghambat sekaligus membunuh mikrobia patogen. Sifat dari antimikrobia sarang lebah madu *Trigona* spp adalah bakteriosidal yang artinya antimikrobia tersebut memiliki kemampuan untuk membunuh mikrobia patogen uji. Senyawa aktif yang berperan dalam penghambatan pertumbuhan mikrobia patogen adalah gugus hidroksil yang menyebabkan perubahan komponen organik dan transport nutrisi sehingga mengakibatkan efek toksik pada mikrobia patogen (Cushnie&Lamb, 2005; Carlo *et al.*, 1999), selain itu juga menghambat spora patogen pada fungi.



S. aureus *P. aeruginosa* *C. albicans*

Gambar 2. Hasil Uji Antimikrobia

Senyawa antimikrobia didominasi oleh asam lemak, baik asam lemak jenuh maupun asam lemak tak jenuh. Senyawa 2-(9,12-octadecadienyloxy) atau Cis-9,12-Octadecadienyloxy ethanol dalam kantong polen memiliki kemampuan sebagai antimikrobia (Lakshmi&Bai, 2015). Senyawa *lauric acid* dan *myristic acid* dalam kantong telur dan *oleic acid* yang terdapat dalam sarang lebah madu *Trigona* spp merupakan antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus* (Batovska *et al.*, 2009; Desbois *et al.*, 2013). Senyawa *decanoic acid* (*capric*) dan asam palmitat yang terdapat dalam semua bagian sarang lebah madu *Trigona* spp serta *lauric acid* dan *myristic acid* dalam kantong telur merupakan agen antifungi yang dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*, bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (Pohl *et al.*, 2011; Karlova *et al.*, 2010; Karbara *et al.*, 1972). Heptadecen-8-carbonic acid dalam kantong polen memiliki kemampuan sebagai agen antimikrobia. Kandungan *coconut oil* murni dalam sarang lebah madu *Trigona* spp merupakan kandungan senyawa lain yang merupakan agen antimikrobia, baik bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Sia *et al.*, 2010). *Cococnut oil* juga dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dengan konsentrasi minimum 25% (Ogoblu *et al.*, 2007).

Kandungan senyawa fenolik (*Phenolic acid*, flavonoid, dan tanin) yang terdapat dalam sarang lebah madu *Trigona* spp dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif seperti *Staphylococcus* dan *Enterococcus* juga bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli* dan *Proteus mirabilis* (Alves *et al.*, 2013). Senyawa fenolik dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan konsentrasi minimum 1,25 mg/ml (Nitiema *et al.*, 2012). Kadar fenol dalam sarang lebah madu *Trigona* spp dalam sarang yaitu; kantong polen 0%; kantong madu 0,22%; kantong telur 0,87%; dan penutup sarang 0,27%. Kadar fenol tertinggi terdapat pada kantong telur. Hasil uji fenol menggunakan HPLC kantong polen menunjukkan hasil 0%, akan tetapi pada uji GC-MS menunjukkan bahwa senyawa fenol terkandung didalam kantong polen. Hal tersebut disebabkan karena pemisahan kantong polen dengan polen menggunakan air yang menyebabkan sebagian besar fenol ikut terlarut didalam air. Hexatriocontane merupakan minyak esensial lain dalam kantong polen erperan sebagai antimikrobia dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (*S.aureus*) dan Gram negatif (*Bacillus*) serta fungi strain *A.niger*.

Mekanisme asam lemak sebagai antimikrobia yang dapat menghambat atau membunuh dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti konsentrasi antimikrobia, mikrobia target, dan keadaan fisiologi mikrobia seperti suhu dan pH (Desbois, 2012). Antimikrobia asam lemak memiliki sebaran spektrum yang luas untuk menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif maupun *yeast*. Antimikrobia asam lemak memiliki kelebihan lain seperti; relatif lebih stabil, tidak menimbulkan korosi, konsentrasi yang digunakan sampai milimolar, lebih berpengaruh besar pada pH rendah, dan toksisitasnya rendah terhadap sel non-mikrobia (Desbois, 2012).

KESIMPULAN

Rendemen hasil ekstraksi sarang lebah madu *Trigona spp*, yaitu kantong polen 47,8%, kantong madu 49,74%, kantong telur 40,92%, penutup sarang 39,05%, dan campuran keseluruhan sarang (mix) 42,74%. Analisis antimikrobia menunjukkan bahwa sarang *Trigona spp* berpengaruh menghambat pertumbuhan mikrobia patogen uji dengan konsentrasi hambat minimal 1% (v/v). Senyawa kimia utama sebagai antimikrobia berasal dari asam lemak dan fenol

DAFTAR PUSTAKA

- Alves, M., Fereira, I., Froufe, H., Abreu, R., Martins, A & Pintado, M. (2013). Antimicrobial Activity of Phenolic Compound Identified in Wild Mushrooms, SAR Analysis and Docking Studies. *Journal of Applied Microbiology* ISSN 1364-5072
- Atlas, R. (2010). *Handbook of Microbiological Media 4th Edition*. Washington DC: CRC press Taylor & Francis Group
- Batovska, D., Todorova, I., Tsvetkova, I., & Najdenski, H. (2009). Antibacterial Study of The Medium Chain Fatty Acids and Their 1-Monoglycerides: Individual Effects and Synergistic Relationships. *Polish Journal of Microbiology*, Vol 58, No 1, 43-47
- Carlo, G., Mascolo, N. & Izzo, A. (1999). Flavonoids: Old and New Aspect of A Class of Natural Therapeutic Drugs. *Life Science* Vol. 65(4): 337-353 Elsevier Science Inc
- Contrera, F., Fonseca, V. & Nieh, J. (2004). Temporal and Climatological influences on Flight Activity in the Stingless bee *Trigona hyalinata*. *Rev Technologia e Ambiente, Criciuma* Vol. 1(2): 35-43
- Cushnie, T. & Lamb, A. (2005). Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agent* 26: 343-356 www.ischemo.org
- Desbois, A. & Lawlor, K. (2013). Antibacterial Activity of Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids against *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Marine Drugs* www.mdpi.com/journal/marinedrugs ISSN 1660-3397
- Desbois, A. (2012). Potential Applications of Antimicrobial Fatty Acids in Medicine, Agriculture and Other Industries. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery* Vol 7, No 2 Bentham Science Publisher
- Fatoni, A., Artika, I., Hasan, A., Kuswandi. (2008). Activity of Propolis Produced by *Trigona spp*. Against *Campylobacter spp*. *Journal of Biosciences* ISSN: 1978-3019.
- Karbara, J., Swieczkowski, D., Conley, A. & Truant, J. (1972). Fatty Acids and Derivatives as Antimicrobial Agents. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy American Society for Microbiology*
- Karlova, T., Polakova, L., Smidrkal, J. & Filip, V. (2010). Antimicrobial Effects of Fatty Acid Fructose Esters. *Czech Journal Food Sci* Vol 28 (2): 146-149
- Kumar, N., Mueen, A., Dang, R., Shivananda, T., & Das, K. (2009). GC-MS Analysis of Propolis of Indian Origin. *Journal Young Pharm* Vol.1 (1): 46-48
- Lakshmi, V. & Bai, V. (2015). Determination of Biologically Active Compound in *Clerodendrum phlomidis* (L.) Leaf Extract Using GC/MS. *International Journal of Multidisciplinary Research and Development* 2(1): 294-300 www.allsubjectjournal.com
- Nitiema, L., Savadogo, A., Simpore, J., Dianou, D. & Traore, A. (2012). In Vitro Antimicrobial Activity Some Phenolic Compounds (Coumarin and Quercetin) Against Gastroenteritis Bacterial Strains. *International Journal of Microbiological Research* 3(3): 183-187
- Ogoblu, D., Oni, A., Daini, O. & Oloko, A. (2007). In Vitro Antimicrobial Properties of Coconut Oil on *Candida* Species in Ibadan, Nigeria. *Journal of Medicinal Food* 10 (2): 384-387
- Pérez-Pérez, E.M., Suárez, E., Peña-Vera, M.J., González, A.C., Vit, P. (2013). Antioxidant activity and microorganisms in nest products of *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 from Mérida, Venezuela. pp. 1-8. In Vit P & Roubik DW, eds. *Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots*. Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes; Mérida, Venezuela.
- Pohl, C., Kock, K. & Thibane, V. (2011). Antifungal Free Fatty Acids: A review. *Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research And Technologi Advances*
- Pujirahayu, N., Ritonga, H. & Uslinawaty, Z. (2014). Properties and Flavonoids Content In Propolis of Some Extraction Methode of Raw Propolis. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciencess* 6 ISSN.0975-1491
- Ra'ed, J. A, Ibrahim, K. N, Rula, M. D. & Mosa, A. (2008). Honey Bee Hive Modification for Propolis Collection. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, Vol 4(2)
- Rahmayanti, D., Dharma, A. & Salim, M. (2013). Fermentasi Anaerob dari Sampah Pasar Untuk Pembentukan Biogas. *Jurnal Kimia Unand* Vol. 2 (2) ISSN No.2303-3401
- Reybroeck, W., Daeseleire, E., Barabander, H & Herman, L. (2012). Antimicrobials in Beekeeping. *Veterinary Microbiology* 158 1-11
- Rodrigues, M., Santana, W., Freitas, G & Soares, E. (2007). Flight Activity of *Tetragona clavipes* at The Sao Paulo

University Campus in Ribeirao Preto. Biosci, J., *Uberlandia* vol 23, supplement 1, p. 118-124

- Sabir, A. (2005). Aktivitas antibakteri flavonoid propolis *Trigona* sp terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro). Makasar: Universitas Hasanudin. *Majalah Kedokteran Gigi. (Dent. J.)*, Vol. 38. No. 3: 135–141
- Selvan, A & Prabhu, T. (2010). Extraction Of Propolis From Beehives And Characterization Of Its Constituents And Medicinal Properties :A Review. *International Journal of Advanced Engineering Technology* Vol.I/ Issue III/Oct.-Dec.,2010/50-53 E-ISSN 0976-3945
- Sia, C., Yim, H., Lai, C. (2010). Commercial Virgin Coconut Oil: Assesment of Antimicrobial potential. *Asian Journal of Food and Agro-Industry* 3(06),567-579 ISSN 1906-3040
- Wahyuni, N., Sari, S., Kurniawan, E. (2013). Teknik Produksi Propolis Lebah Madu *Trigona* Spp di NTB. Laporan Hasil Penelitian Balai Penelitian Teknologi Hasil Hutan Bukan Kayu Mataram