

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

[The Effect of Bee Propolis and Royal Jelly in Abscess Caused by *Staphylococcus aureus*]

NLP I Dharmayanti¹, E Sulistyowati², MN Tejolaksono² & R Prasetya²

¹ Balai Penelitian Veteriner, Jl. R.E. Martadinata 30, Bogor 16114

² Fakultas Kedokteran Hewan - Universitas Airlangga, Surabaya

ABSTRACT

A study was done to evaluate the effect of bee propolis and royal jelly on *Staphylococcus aureus* growth and duration of abscess healing. In vitro and in vivo methods were used on the study. In vitro method conducted by dilution method. In vivo study treatments were divided in four groups. Each group was infected by $1.66.10^3$ cell/ml of *S. aureus* to get abscess. The group consists of treatment by abscess surgical and given bee propolis (A), abscess surgical and given royal jelly (B), abscess surgical and not given medication, and group control, no abscess surgical nor given medication. In vitro result showed minimal bactericidal concentration value of bee propolis and royal jelly were the same at concentration 6.25%. In vivo result showed duration of abscess healing were significantly different ($p < 0.01$).

Kata kunci/keywords: propolis lebah/bee propolis, royal jelly, abses/abscess, *Staphylococcus aureus*.

PENDAHULUAN

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

Antibiotika merupakan salah satu jenis obat yang sangat penting dalam penanggulangan penyakit pada manusia dan hewan. Sejak diperkenalkannya pemakaian penisilin di tahun 1943 dan 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. *S. aureus* banyak yang dengan cepat menjadi resisten terhadap beberapa antibiotika sehingga menyulitkan dalam hal terapinya (Jawetz *etal.* 1995).

Menurut data Pusat Kulit Nasional Singapura, sepanjang 10 tahun terakhir terdapat 9 dari 10 pasien pengidap infeksi kulit bakteri tidak

bisa disembuhkan dengan antibiotika. Sebagian besar penyebab infeksi tersebut adalah *S.aureus* yang ternyata telah mengalami resistensi terhadap penisilin dan ampisilin. Dilaporkan pula bahwa hanya 3 dari 10 pasien yang efektif diobati dengan tetrasiklin. Bahkan cloksasilin dan eritromisin, antibiotika yang lebih mahal juga mulai tidak efektif lagi melawan *S.aureus*. Beberapa studi juga menunjukkan bahwa 5% dari 331 pasien yang diteliti mengidap MRSA (*Methicilin Resistant Staphylococcus aureus*). Bahaya yang ditimbulkan oleh MRSA ini jauh lebih besar, karena dapat menginfeksi sistem peredaran darah dan mengakibatkan kematian. Untuk mengatasi resistensi ini, muncullah antibiotika yang lebih baru dan lebih efektif untuk mengatasi bakteri ini, yang biasanya lebih mahal (Anonimus, 1996). Beberapa alternatif pengobatan kemudian dipilih, biasanya yang lebih murah dan lebih mudah dijangkau masyarakat. Misalnya pengobatan tradisional dengan produk-produk hewan, yaitu produk lebah madu seperti madu, propolis lebah dan *royal jelly*. Propolis adalah produk alami lebah yang menunjukkan efek antimikrobal (Focht *et al.* 1993;

Rao *et al.* 1993) termasuk di dalamnya mempunyai efek antibakterial (Grange and Davey, 1990). Kemampuan antimikroba dari propolis berasal dari kandungan flavonoid yang tinggi (Wade, 1983; Grange and Davey, 1990; Krol *et al.* 1990). Flavonoid juga sebagai anti hemoragi dan disebut sebagai vitamin P-Faktor (Claus, 1973), anti inflamasi dan anti trombotik (Evans, 1989). Dari kandungan propolis tersebut di atas diharapkan dapat mengobati dan menyembuhkan abses yang disebabkan oleh *S. aureus*.

Komposisi kimia yang kompleks, membuat *royal jelly* mempunyai khasiat atau efek fisiologis yang bermacam-macam terhadap organisme lain di samping lebah madu itu sendiri. Zat antibakteri 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 berbentuk asam lemak dengan struktur $\text{HO}(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CHCOOH}$. Asam lemak ini terdapat dalam jumlah 10% dari keseluruhan *royal jelly* kering (Budavari *et al.* 1969). Royalisin berbentuk protein dan hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat propolis lebah dan *royal jelly* terhadap *S. aureus* secara *in vitro* dan lama waktu kesembuhan abses yang disebabkan *S. aureus* dengan pemberian propolis lebah dan *royal jelly*.

BAHAN

Penyiapan Bahan Obat

Propolis lebah dan *royal jelly* diperoleh dari peternakan lebah *Apis mellifera* di daerah Pasuruan. Propolis lebah yang digunakan diekstraksi dengan metode menurut Harborne and Swain serta Peach and Tracey (Dharmayanti, 1996). Sedangkan *royal jelly* yang diperoleh terlebih dahulu diliofilisasi sampai didapatkan *royal jelly* kering.

Penyiapan Hewan Coba

Hewan coba menggunakan marmut berumur 3 bulan dengan tidak membedakan jenis kelaminnya sebanyak 76 ekor yang terbagi menjadi dua kelompok. Kelompok pertama untuk penentuan rD_{50} sebanyak 36 ekor dan kelompok kedua terdiri dari 40 ekor untuk perlakuan pengobatan. Untuk memperoleh kondisi tubuh yang optimal pada saat dilakukan penelitian, maka 76 ekor marmut dilakukan tindakan penyesuaian lingkungan. Marmut ditempatkan pada kandang baterai dan diberi makan serta minum secara *ad libitum*.

Pembuatan suspensi kuman

Empat sampai lima koloni kuman diambil dan disuspensikan dengan 1 ml *Brain Heart Infusion Broth (BUI)*, diinkubasi pada suhu 37°C selama 4 - 8 jam. Selanjutnya ditambahkan akuades steril sampai kekeruhan sebanding dengan standar Me. Farland No. I (Jang *et al.* 1978).

METODE

Penelitian dilakukan secara *in vitro* menggunakan uji sensitifitas metode dilusi dengan penentuan MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*) dan secara *in vivo* pada hewan coba marmut yang dibagi meliputi penentuan ID_{50} dan perlakuan pengobatan pada abses dengan propolis lebah dan *royal jelly*.

Pelaksanaan Penelitian

Metode In Vitro

MBC Test digunakan untuk mengetahui konsentrasi minimal dari suatu larutan anti mikroba terhadap pertumbuhan kuman tertentu. Cara kerjanya dengan membuat pengenceran bahan obat (propolis lebah dan *royal jelly*) dengan beberapa konsentrasi (100% sampai 0,1953%). Kemudian pada semua konsentrasi ditambahkan suspensi kuman sebanyak 1 ml dan diinkubasi pada suhu

37°C selama 24 jam. Larutan konsentrasi 100% diambil 0,1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri 1, larutan konsentrasi 50% diambil juga sebanyak 0,1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri 2, demikian selanjutnya sampai konsentrasi 0,1953%. Selanjutnya masing-masing cawan petri dituangi *mcmmitol salt agar* (MHA) pada suhu (52 - 55)° C. Setelah diinkubasi, diamati pertumbuhan kuman untuk mengetahui konsentrasi bakterisidal minimal propolis lebah dan *royal jelly* terhadap *S. aureus* (Finegold and Baron, 1986).

Metode *In Vivo*

Penentuan ID₅₀

Penentuan ID₅₀ dilakukan menurut metode Reed and Muench dengan menggunakan 36 ekor marmut yang selanjutnya dibagi menjadi 6 kelompok. Setelah diketahui dosis ID₅₀nya maka dapat diketahui jumlah kuman dalam suspensi kuman yang akan digunakan untuk menginfeksi marmut. Sedangkan penghitungan kuman dilakukan dengan metode Koch.

Pembuatan abses steril buatan

Dilakukan pembuatan abses steril buatan (Nougayrede, 1980) pada daerah muskulus gluteus dengan tujuan membuat peradangan sebelum diinfeksi dengan isolat *S.aureus*. Setelah 48 jam akan timbul peradangan lokal pada tempat pembuatan abses steril yang ditandai dengan bengkak, panas, merah dan nyeri.

Perlakuan

Perlakuan menggunakan marmut sebanyak 40 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Setelah dibuat abses steril pada *musculus gluteus* masing-masing marmut, selanjutnya pada lokasi tersebut disuntikkan isolat kuman *S. aureus* sebanyak 1 ml dengan dosis yang diperoleh dari penentuan ID₅₀. Abses yang timbul kemudian dilakukan isolasi dan identifikasi untuk memastikan penyebab abses adalah *S. aureus*.

Setelah abses dipastikan disebabkan oleh *S. aureus* maka dilakukan tindakan operatif pada tiga kelompok perlakuan yaitu kelompok A, B, C dan D sebagai kelompok kontrol.

Setelah marmut dibersihkan, di daerah sekitar abses dilakukan pencukuran bulu lalu dicuci dengan sabun. Setelah kering di daerah tersebut diberi alkohol 70% dengan menggunakan tampon supaya daerah di sekitar abses steril. Selanjutnya diberikan anestesi lokal dengan eter klorida spray. Kemudian dilakukan tindakan bedah yaitu dengan menginsisi bagian abses dan mengeluarkan cairan atau pus abses sampai bersih lalu dilakukan drainase dengan akuades steril. Tindakan selanjutnya adalah kelompok A diberi perlakuan operatif dan pengobatan dengan propolis lebah, kelompok B, diberi perlakuan operatif dan pengobatan dengan *royal jelly*, kelompok C, diberi perlakuan operatif tetapi tidak dilakukan tindakan pengobatan, dan kelompok D untuk perlakuan kontrol, tidak dilakukan tindakan operatif dan pengobatan.

Pemberian propolis lebah dan *royal jelly* secara topikal dalam bentuk salep dengan dosis yang didapat dari penentuan MBC. Pengobatan dilakukan tiga kali sehari (06.00; 14.00 dan 22.00).

Parameter yang diamati

- a. Pada penentuan MBC dilakukan dengan melihat ada tidaknya pertumbuhan koloni kuman pada media agar. Tidak adanya pertumbuhan kuman berarti bahan 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/nanah pada luka bekas abses yang telah diobati. Satuan yang digunakan dalam perhitungan lama waktu penyembuhan abses adalah hari.

Rancangan dan Analisis

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh, 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 (BNT) (Kusriningrum, 1989).

HASIL

In Vitro

Penentuan mengenai efektifitas propolis lebah dan *royal jelly* pada abses yang disebabkan *S.aureus* secara *in vitro* dengan metode dilusi yaitu penentuan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) diperoleh seperti pada Tabel 1. Dari Tabel 1 dapat diketahui MBC propolis lebah dan royal jelly adalah pada konsentrasi 6,25%.

Hal ini menunjukkan bahwa propolis lebah dan *royal jelly* mempunyai kemampuan yang sama dalam membunuh *S. aureus* secara *in vitro*.

Konsentrasi inilah (6,25%) yang menjadi dosis untuk digunakan mengobati abses pada hewan coba.

In Vivo

Hasil penghitungan ED₅₀ dapat dilihat pada Tabel 2, yang berarti ID₅₀ adalah pada konsentrasi 10⁻⁴. Pada penghitungan kuman dengan metode Koch, dihasilkan bahwa 1 ml suspensi kuman mengandung kuman 1,66.10³ sel/ml.

Jadi pada penelitian ini digunakan suspensi kuman pengenceran 10" dengan jumlah kuman 1,66.10³ sel/ml., karena dosis ini merupakan dosis infeksi *S.aureus* pada marmut yang dapat menimbulkan abses.

Pada penelitian ini tanda-tanda abses muncul 4 hari paska penyuntikan dengan isolat *S. aureus* yang dapat dilihat adanya kebengkakan dan timbunan nanah dengan diameter 2,5 - 3 cm. Hasil isolasi, identifikasi dan biokimia membuktikan bahwa abses disebabkan *S¹. aureus*.

Tabel 1. Pertumbuhan *S.aureus* akibat pemberian propolis lebah dan *royal jelly* pada pengujian MBC

Fengenceran (Konsentrasi)	Fertumbuhan bakteri akibat pemberian	
	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 (akuades)	+	+

Keterangan: + = Terdapat pertumbuhan bakteri
 - = Tidak terdapat pertumbuhan bakteri

Tabel 2. Data Penghitungan ID50

Pengenceran	Hasil Individu		Hasil Kuniatif		%	Jumlah Kuman (fcoliii)
	+	-	+	-		
10 ⁰	6	0	21	0	100%	>300
10 ⁻²	5	1	15	1	94%	>300
10 ⁻³	5	1	10	2	83%	>300
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: + = Marmut menderita abses lokal pada daerah penyuntikan

- = Marmut tidak menderita abses

Tabel 3. Hasil uji Beda Nyata Terkecil dari ketiga perlakuan

Perlakuan	Rataan Waktu Kesembuhan Abses (dalam satuan hari)
Propolis Lebah	6,227 ^a ± 0,367
Royal jelly	7,308 ^a ± 0,314
Dilakukan tindakan operatif	30,272 ^b ± 1,681
Tapi tidak diobati	

Superskrip: a = butuh waktu penyembuhan lebih pendek

b = butuh waktu penyembuhan paling lama

Berdasarkan hasil pengamatan selama 1 minggu terhadap 40 ekor marmut diperoleh hasil 30 hewan coba mengalami kesembuhan (perlakuan A, B, C) dengan waktu penyembuhan seperti pada Tabel 3 dan kelompok kontrol yaitu perlakuan D tidak mengalami kesembuhan bahkan mengalami kematian pada hari ke 14.

Analisa data memberikan perbedaan yang sangat nyata pada ketiga perlakuan terhadap lama waktu kesembuhan abses pada marmut ($p < 0,01$).

Hasil analisa statistik dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan bahwa perlakuan C membutuhkan waktu penyembuhan abses paling lama dan sangat berbeda nyata dengan perlakuan A dan B. Perlakuan A memerlukan waktu penyembuhan abses yang paling pendek dan tidak berbeda nyata dengan waktu penyembuhan abses dari perlakuan B.

PEMBAHASAN

Karakteristik lesi yang disebabkan *S. aureus* adalah abses. Peradangan setempat

merupakan sifat khas dari infeksi *Staphylococcus*. Setelah penyebab radang masuk ke dalam tubuh, akan terjadi perubahan-perubahan meliputi perubahan penampang pembuluh darah akibat meningkatnya aliran darah, lepasnya protein plasma dan leukosit dari aliran darah dan agregasi leukosit di lokasi radang (Robbins and Kumar, 1987). Tanda-tanda peradangan yang sering muncul selama proses peradangan diterangkan oleh Celsis (30 SM - 38 SM) yang dikutip oleh Smith *et al* (1972) adalah khas dan biasa disebut *Rubor et Tumor cum Calore et Dolore* yang artinya kemerahan, kebengkakan, panas dan nyeri. Kemerahan yang muncul disebabkan adanya peningkatan aliran darah pada daerah peradangan. Kebengkakan disebabkan adanya peningkatan jumlah darah dan akibat terbentuknya eksudat. Panas yang terbentuk merupakan akibat dari peningkatan metabolisme tubuh. Rasa nyeri disebabkan adanya tekanan mekanis pada ujung-ujung syaraf sensoris. Tanda kelima ditambahkan oleh Galeni (130 - 200 M) adalah *wwc/zo lessa* atau gangguan fungsi. Kegunaan flavonoid dari

propolis di sini adalah sebagai vitamin P-faktor atau sebagai faktor yang dapat menurunkan permeabilitas kapiler, sehingga perdarahan kapiler dapat dicegah, serta kerapuhan atau kerusakan kapiler dapat diperbaiki (Claus *et al.* 1973; Tyler *et al.* 1988). Pambuluh kapiler mutlak diperlukan dalam jumlah yang cukup untuk menyediakan nutrisi dan oksigen dalam menunjang dan mempercepat waktu penyembuhan luka (Wind and Rich, 1993).

Sebagai anti inflamasi, flavonoid menekan pembengkakan lokal, sehingga suplai darah ke luka tidak terganggu. Defisiensi suplai darah menyebabkan perlambatan penyembuhan, infeksi menetap dan penyembuhan yang buruk (Price and Wilson, 1993).

Infeksi selalu menghambat proses penyembuhan luka. Hal ini terjadi karena penimbunan eksudat yang menimbulkan distensi pada luka, mengurangi penyediaan pembuluh darah dan meningkatkan tanggapan sel di mana pada gilirannya akan berakibat perpanjangan fase pambuangan jaringan nekrotik pada penyembuhan luka. Flavonoid sebagai antibakterial dapat menekan bakteri yang mengkontaminasi luka, sehingga infeksi dapat dihindarkan. Propolis membunuh bakteri dengan beberapa cara, yaitu mencegah pembelahan bakteri, sehingga bakteri tidak dapat berkembang biak, merusak dinding sel dan membran sitoplasma bakteri.

Aktivitas anti inflamasi *royal jelly* dengan menurunkan kelembaban dan kandungan kolagen yang menunjukkan penghambatan eksudasi dan menurunkan permeabilitas kapiler (Fuji *et al.* 1990). Sebagai antibakterial *Royal jelly* mampu menghambat bakteri Gram negatif maupun bakteri Gram positif karena kandungan asam lemak dan kadar gula yang tinggi menyebabkan cairan bakteri terserap keluar (Blum *et al.* 1959). Selain itu royalisin dalam *royal jelly* mempunyai mekanisme kerja merusak membran potensial bakteri (Fujiwara *et al.* 1990). Royalisin mengandung kadar sistein yang tinggi (6 residu) dan dihubungkan oleh tiga

ikatan sulfida. 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 yang selektif terhadap bakteri Gram positif termasuk *S. aureus*.

Hasil penelitian secara *in vitro* membuktikan bahwa kelompok A dan B mempunyai efektifitas yang sama dalam menyembuhkan abses yang disebabkan *S. aureus*. Hal ini disebabkan karena propolis lebah dan *royal jelly* mempunyai khasiat yang sama yaitu sebagai antibakterial dan anti inflamasi, yang sangat berguna dalam penyembuhan abses.

Kelompok A dan B yang diobati dengan salep (propolis lebah dan *royal jelly*) dengan konsentrasi 6,25 % mengalami kesembuhan rata-rata pada hari ke 6 atau 7. Hal ini disebabkan karena selain tubuh mengadakan pemulihan tubuh sendiri dibantu dengan obat (Propolis lebah dan *royal jelly*). Propolis lebah dan *royal jelly* berguna untuk mempercepat reaksi pemulihan. Kelompok C, memerlukan waktu penyembuhan abses paling lama. Setelah dilakukan tindakan operatif, luka masih mengeluarkan pus/nanah dikarenakan tubuh belum mampu memproduksi antibodi dalam jumlah cukup untuk mengeliminir *S.aureus*. Adanya luka (luka dibuat untuk mengeluarkan pus dari abses) membantu keadaan ini, yang berarti ada tahanan yang lebih rendah sehingga cairan abses akan mencari jalan keluar di tempat yang paling rendah tahanannya. Setiap hewan normal mempunyai daya tahan terhadap adanya penyakit atau gangguan mikroba. Daya tahan yang dihasilkan oleh tubuh ini menyebabkan tubuh dapat membentuk jaringan baru sebagai pengganti jaringan yang rusak, sehingga penyembuhan dapat terjadi walaupun memerlukan waktu lebih lama (Tizzard, 1987). Kesembuhan ini tergantung dari daya tahan individu, karena jika daya tahan tubuh tidak dapat mengatasi maka akan timbul reinfeksi atau infeksi sekunder.

Pada kelompok kontrol semua hewan mengalami kematian pada hari ke 14, hal ini disebabkan karena walaupun abses bersifat lokal, dari fokus ini kuman akan menyebar ke bagian tubuh yang lain melalui pembuluh darah dan pembuluh getah bening, sehingga terjadi bakterimia dan abses pada semua organ tubuh (Volk, 1992).

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasar hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa propolis lebah dan *royal jelly* dapat membunuh *S. aureus* secara *in vitro* dan dapat digunakan pada penyembuhan abses yang disebabkan oleh *S.aureus* dengan waktu penyembuhan antara keduanya yang tidak berbeda nyata.

Saran yang dapat disampaikan yaitu menggunakan propolis lebah dan *royal jelly* konsentrasi 6,25% pada penyembuhan abses yang disebabkan *S.aureus* sebagai alternatif pengobatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 1993.** *Memasyarakatkan Taman Obat Keluarga (TOGA), Pemanfaatan Tanaman Obat (PTO) dan Cara Meracik Obat Tradisional (Jamu)*. Proyek Pengabdian Kepada Masyarakat. Edisi 3. Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya. Hal. 3 -4.
- Anonimus. 1996.** Infeksi Kulit Kian resisten Antibiotika. *Jawa Pos*, 4 Agustus 1996. Hal. 7.
- Blum MS, Novak AP and S Taber. 1959.** 10-Hidroxy-2Decenoic acid, An Antibiotic found in Royal Jelly. *Science* **3373 (130)**, 452-453.
- Budavari S. 1969.** *The Merck Index*. 11th Ed. Merck and Co Inc. Rahway. New York, USA.
- Dharmayanti NLP I. 1996.** *Daya Antibakteri Madu Alami dan Ekstrak Propolis Lebah terhadap Staphylococcus aureus Secara In Vitro*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.
- Claus EP, Tyler VE and Brandy LR. 1973.** *Pharmacognosy*. 6th Ed, 102-104, 143-145. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Finegold MB and Baron EJ. 1986.** *Diagnostic Microbiology*. 7th Ed, 152. The CV Mosby Company. St. Louis Toronto Pricenton..
- Focht J, Hansen SH, Nielsen JV and Van De Berg Seger A. 1993.** Bactericidal Effect of Propolis In Vitro Against Agent Causing Upper Respiratory Tract Infections. *Arzeimittelforschung* **43 (8)**, 921-923. (Abstr.).
- Freeman BA. 1985.** *Burrow's Textbook of Microbiology*. 22th Ed. WB Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Rio de Janeiro, Sidney, Tokyo.
- Fuji A, Kobayashi S, Koboyama N, Furukawa Y, Ishima, Yamamoto H and Tanura T. 1990.** Augmentation of Wound Healing by Royal Jelly (RJ) in Streptozotocin Diabetic Rat. *Japan Journal Pharmacology* **53 (3)**, 331-337.
- Fujiwara S, Imai J, Fujiwara M, Yashima T, Kawashima T and Kobayashi A. 1990.** A Potent 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). *Journal R. Soc. Med.* **83(3)**, 159-160. (Abstr.).
- Jang SS, Biberstein EL and Hirsh DC. 1978.** *A Diagnostic Manual of Veterinary Clinical Bacteriology and Mycology*, 22nd Ed. Paradaniya.
- Jawetz E, Melnick JL, Adeiberg EA, Brooks JF, Butee JS and Nicholas LO. 1995.** *Medical Microbiology*, 12th Ed. Appleton and Lange, Prentice-Hall International. London.
- Krol W, Czuba Z, Schaller S, Gabry J, Grabiec and Shani J. 1990.** Anti-Oxidant Property of Ethanolic Extract of Propolis (EEP) As Evaluated by Inhibiting the Chemiluminescence Oxidation of Luminol. *Biochem. Int.* **21(4)**, 593-597. (Abstr).
- Kusriningrum. 1989.** *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan AcakLengkap*, 53-64; 91-97; 123; 135-147. Universitas Airlangga, Surabaya.

- Nougayrede A. 1980.** *Immunostimulan Etude de Qulqueslysats Bacteriens*, 64. These.
- Price SA and Wilson NM. 1993.** *Patofisiologi*. Edisi 2, 31-53. (AlihbahasaolehDarma). Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Rao CV, Desai D, Kaul B, Amin S and Reddy BS. 1992.** Effect of Caffeic Acid Esters on Carcinogen Induced Nutagenicity and Human Colon Adenocarcinoma Cell Growth. *Chem. Biol. Interact.* 84 (3), 921-923. (Abstr).
- Robbing SL and Kumar V. 1987.** *Basic Pathology*. 4th Ed, 29-55. Texas.
- Smith HA, Jones TC and Hunt RD. 1972.** *Veterinary Pathology*. 4th Ed, 145-189. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Tizzard I. 1987.** *Veterinary Immunology on Introduction*. 3rd Ed, 267-270. WB Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto Mexico City, Rio De Janeiro Sydney, Tokyo.
- Tyler VE, Brady LR and Robber JE. 1988.** *Pharmacocnosy*. 9th Ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Wade C. 1982.** Bee Propolis the Natural Answer to Cold, Sore Throaths and Other Infections. *The American Chiropractor*. January/February, 28-30.
- Wind CG and Rich NM. 1993.** *Prinsip Teknik Bedah*. Hipocrates, Jakarta.