

PENERAPAN TEKNOLOGI NANOPARTIKEL UNTUK SEDIAAN OBAT (ANTIBIOTIK BERBASIS BAHAN ALAM, PROPOLIS *Trigona* spp)

H. A. E. Zainal Hasan¹, I Made Artika¹, Vita Rosaline Fahri¹ dan Nurmalia Sari¹

¹Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Pertanian Bogor

ABSTRAK

Zainal Hasan dkk., 2012. Penerapan teknologi nanopartikel untuk sediaan obat (antibiotik berbasis bahan alam, Propolis *Trigona* spp.)

Propolis *Trigona* spp telah diteliti dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Escherichia coli*. Senyawa Flavonoid yang terkandung dalam propolis diduga berperan sebagai antibakteri. Jika ukuran partikel makin kecil maka luas permukaan partikel makin besar sehingga laju dari larutan semakin meningkat dan mempercepat penyerapan obat melalui peredaran darah sehingga efek terapeutiknya lebih cepat tercapai. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk memperkecil ukuran partikel guna meningkatkan kelarutan dan penyerapan suatu sediaan farmasi adalah dengan menggunakan nanoteknologi.

Pada penelitian ini telah dirancang sediaan propolis dalam bentuk nanopartikel. Tujuan penelitian ini adalah membuat nanopartikel dari propolis *Trigona* spp. Proses pembuatan nanopropolis yaitu dengan cara penyalutan dan homogenizer pada kecepatan tinggi. Telah dilakukan uji aktivitas dari nanopartikel propolis sebagai antibakteri dan menentukan konsentrasi hambat tumbuh minimum propolis nanopartikel terhadap bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*. Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa propolis *Trigona* spp dapat dibuat dalam bentuk nanopartikel. Hasil *Scanning Electron Microscopy* menunjukkan adanya ukuran diameter nanopropolis sebesar 100 – 322 nm. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan pada konsentrasi 10% - 0,02% nanopropolis aktif terhadap *E. coli* sedangkan propolis bukan nanopartikel aktif sampai konsentrasi 0,15%. Dengan demikian KHTM 'propolis bukan nanopartikel' dicapai pada konsentrasi 0,15%, sedangkan nanopropolis KHTM nya lebih rendah dari 0,02%. Propolis nanopartikel lebih efektif dibandingkan 'propolis bukan nanopartikel' dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*.

Kata kunci : propolis, nanopartikel, E.coli, KHTM

ABSTRACT

Zainal Hasan et al., 2011. Application of nanoparticle technology for medicine prepare (Antibiotic base on natural product, Propolis *Trigona* spp.)

Trigona spp propolis has been evaluated can inhibit *Escherichia coli*. Flavonoid in propolis suggested act as antibacterial. If particle size smaller, then its surface area is bigger, so the rate of drugs absorption were increased trough blood circulation and its therapy effect can be achieved faster. One of resize way to reduce particle size to increase its solubility dan absorption pharmaceutical is using nanotechnology.

This research has been designed propolis in nanoparticle size. The aims of this research is to make nanoparticle propolis from *Trigona* spp. The process to make nanopropolis was covered it and homogenize in high speed. Nanopropolis activity evaluation has been done as antibacterial and determined its minimum inhibition concentration on *Escherichia coli* (*in vitro*). *Trigona* spp propolis can be made to nanoparticle. *Electron Microscopy* scanning shows nanopropolis diameter was 100 – 322 nm. Antibacterial activity evaluation shows on nanopropolis concentration 10% - 0,02% active on *E. Coli*, although nonnanopropolis active on concentration 0,15%. Nanopropolis is more effective than non nanopropolis to inhibit *E. coli*.

Keywords : propolis, nanopartikel, E.coli, KHTM

PENDAHULUAN

Kandungan kimia propolis bergantung pada tumbuhan di sekitarnya, musim pengambilan, dan letak geografis tempat pengambilan. Sarang lebah sebagai sumber propolis dalam penelitian ini merupakan sarang lebah *Trigona* spp yang diperoleh dari daerah Sumatera Barat. Fatoni (2008) menyatakan bahwa ekstrak propolis pada konsentrasi

2,03% dapat menghambat bakteri patogen seperti *E.coli*. Penelitian yang dilakukan oleh Hasan (2006) menunjukkan bahwa propolis hasil ekstrak etanol dapat digunakan sebagai senyawa antibakteri baik bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*) maupun bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*).

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. Penggunaannya 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.

Nanopartikel termasuk golongan *Solid Colloidal Drug Delivery System*, dan merupakan dasar dari sistem penghantaran obat yang bersifat dapat diuraikan oleh tubuh. (*biodegradable*) dan tidak toksik. Nanopartikel adalah suatu preparat parenteral dan dapat disimpan dalam bentuk padat. Sediaan nanopartikel ini setelah penyimpanan setahun masih dapat diencerkan kembali menjadi larutan *colloidal* yang baik dan masih mempunyai sifat-sifat *in vivo* dan *in vitro* yang tidak berubah. *Shelf-life* -nya sendiri masih belum diketahui (Wiratmaja, 1984).

Pengurangan atau pengecilan ukuran partikel yang memiliki kelarutan yang kecil akan meningkatkan luas permukaan sehingga akan meningkatkan penguraian partikel yang menyebabkan kelarutannya meningkat (Dressman dkk. 1998; Hörter & Dressman 2001). Ada dua proses utama yang dapat digunakan untuk membuat partikel menjadi ukuran kecil (nano) yang biasa digunakan untuk membuat partikel obat dengan alat pemurnian tinggi, yaitu *wet-grinding in agitated grinding media mills* (Merisko-Liversidge dkk. 2003) dan *high-pressure homogenisation* (Müller dkk. 2000; Müller dkk. 2001).

Penelitian ini bertujuan melihat potensi nanopropolis *Trigona* spp sebagai antibakteri *E.coli*. Hipotesis penelitian ini adalah sediaan propolis *Trigona* spp dalam bentuk nanopartikel memiliki potensi yang lebih tinggi dibandingkan dengan propolis yang bukan nanopartikel.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah kelapa dalam yang sudah tua dan kulit buah pepaya anggur yang masih muda. Sedangkan bahan kimia yang digunakan indikator fenoltalein, larutan NaOH 0.05 N, aquades, adsorben zeolit,

adsorben arang aktif, *glass wool*, kertas saring, asam oksalat dan larutan etanol 96 %. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sentrifuge, neraca analitik, labu Erlenmeyer 250 mL, oven, desikator, kolom kromatografi, gelas ukur 100 mL dan 250 mL, statif, klem, buret 50 mL, pipet mohr, pipet tetes, corong pisah, pemanas, timbangan digital, termometer, cawan porselin, labu takar 500 mL, blender, parutan kelapa, wadah plastik, ember, kain saring dan batang pengaduk.

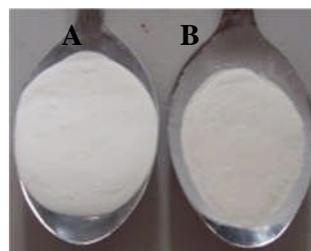
Pembuatan Nanopartikel Propolis berdasarkan atas metoda yang dimodifikasi dari Bhaskar dkk. (2009)

Karakterisasi Sampel dengan SEM

Sampel dikarakterisasi dengan menggunakan alat JSA-65 10LA *Analytical Scanning Electron Microscope* (Jeol) di PTBIN BATAN. Plat platinum disiapkan lalu diambil secuplik sampel dan diletakkan pada permukaan plat. Sampel terlebih dahulu *dicoating* (dilapisi) dengan emas. Pelapisan dilakukan dengan cara sampel yang telah ditempelkan pada permukaan plat platinum yang memiliki dua sisi kemudian dimasukkan ke dalam alat SEM S500 *coating unit* selama ± 15 menit. Sampel yang telah dilapisi, lalu diamati dengan SEM, yaitu sampel dimasukkan ke dalam alat SEM yang telah tersambung dengan komputer. Kemudian SEM diatur vakum dan diamati pada tegangan 7 kV. Perbesaran dapat diatur saat pengamatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nanopropolis yang dihasilkan berbentuk serbuk yang sangat kering (Gambar 1) berwarna putih dan halus.



Gambar 1. Hasil serbuk nanopropolis. A) nanopropolis 1% dan B) nanopropolis 2%.

Karakterisasi SEM Nanopropolis

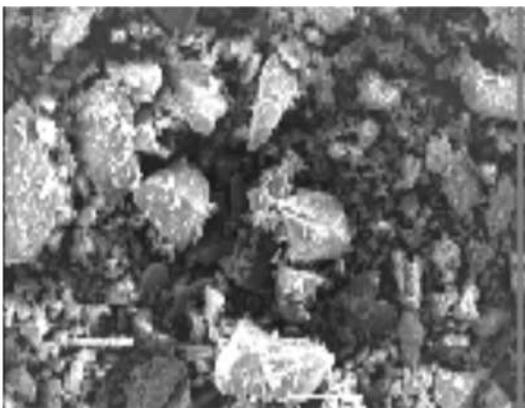
Karakterisasi dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dilakukan untuk mengetahui morfologi dan ukuran nanopropolis tersulut. Sebelum sampel dianalisis dengan SEM, terlebih dahulu

sampel *dicoating*. Sampel diletakkan pada plat platinum yang memiliki dua sisi kemudian dilapis dengan emas yang berfungsi untuk menghasilkan interaksi pancaran elektron pada sampel. Sampel yang telah dilapisi diamati menggunakan SEM dengan tegangan 7 kV dan pada kondisi vakum.

Hasil observasi dengan SEM baik pada nanopropolis 1% (Gambar 2) dan 2% (Gambar 3), morfologi partikel sampel terlihat tidak seragam (bentuknya tidak simetris) dengan tepian yang kurang rata, namun dengan persebaran yang sudah jelas (tidak bergerombol). Hal ini serupa dengan observasi SEM maltodekstrin (Gambar 4) yang dihasilkan Anwar dkk. (2004) dengan bentuk partikel yang tidak seragam. Bentuk yang tidak simetris ini disebabkan dari proses keluarnya cairan dari campuran akibat pengeringan sehingga bentuknya yang tidak beraturan.

Pengambilan gambar diambil secara acak. nanopropolis 1% dengan perbesaran 20.000x dapat dilihat bahwa ukurannya masih belum seragam, ukuran partikel terkecil yang masih terukur sebesar 192 nm, 273 nm, dan masih ada yang berukuran > 800 nm. Hasil untuk nanopropolis 2% dengan perbesaran 10.000x ukuran partikel terkecil yang masih terukur sebesar 100, 141, 322 dan > 700 nm. Pengambilan gambar dilakukan dengan perbesaran yang berbeda, hal tersebut dikarenakan pencarian gambar terpilih yang terbaik yang dapat dilihat.

Pada penelitian ini distribusi ukuran partikel tidak dianalisis secara khusus. Namun, pengamatan secara acak, umumnya distribusi ukuran dari kedua sampel (1 dan 2%) berada dalam kisaran 100 sampai lebih besar dari 800 nanometer, dengan partikel terbesar berada pada nanopropolis 1% yaitu lebih besar dari 800 nm. Hasil ini sesuai dengan Sutriyo

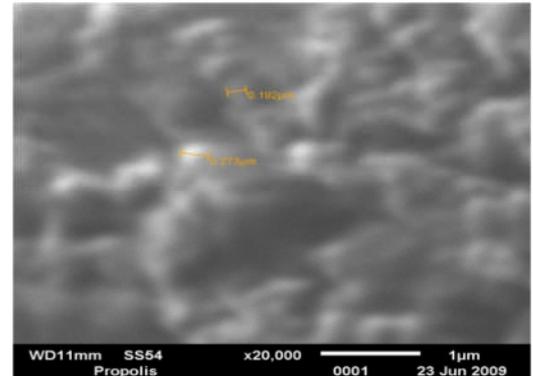


Gambar 4. Morfologi SEM maltodekstrin perbesaran 200x (Anwar, 2004).

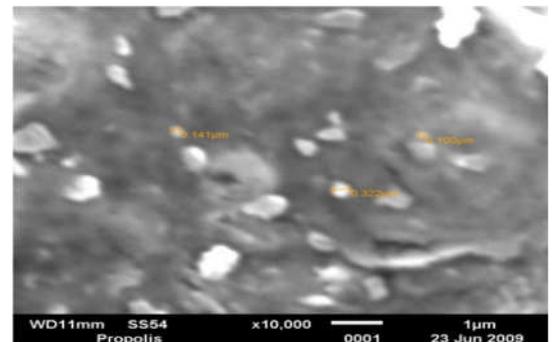
Uji KHTM Nanopropolis

Konsentrasi hambat tumbuh minimum (KHTM) adalah konsentrasi terkecil yang dibutuhkan untuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Penentuan

dkk. (2004) menyatakan bahwa perbedaan distribusi ukuran partikel dipengaruhi oleh jumlah penyalut yang digunakan sebagai pembentuk dinding.



Gambar 2. Morfologi SEM Nanopropolis 1% perbesaran 20.000x. Ukuran nanopropolis yang tampak yaitu 192 nm dan 273 nm.



Gambar 3. Morfologi SEM Nanopropolis 2% perbesaran 10.000x. Ukuran nanopropolis yang tampak yaitu 141 nm, 100 nm, dan 322 nm.

konsentrasi hambat tumbuh minimum dilakukan untuk mengetahui konsentrasi terendah dari antibakteri pada propolis yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Dalam penelitian ini konsentrasi yang digunakan bervariasi antara 10 hingga 0,02%. Hasil uji antar konsentrasi propolis nanopartikel menunjukkan adanya interaksi yang berbeda antara konsentrasi propolis dengan bakteri *E. coli*.

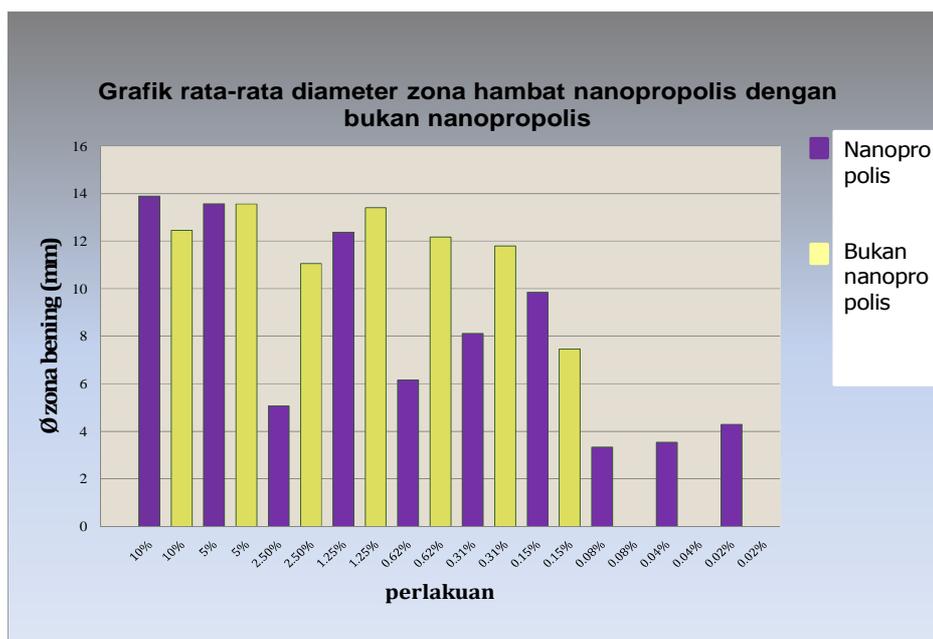
Dari Tabel 1 dan Gambar 5 menunjukkan bahwa lebar zona bening yang terbentuk antar konsentrasi propolis nanopartikel berbeda-beda. Hasil pengujian KHTM menunjukkan propolis nanopartikel masih aktif sampai konsentrasi terkecil terhadap *E. coli*. Untuk memperoleh nilai Konsentrasi Hambat Tumbuh Minimumnya diduga harus dilakukan pengenceran nanopropolis yang lebih kecil sehingga memungkinkan ditemukan nilai KHTMnya

Uji KHTM propolis bukan nanopartikel

Tabel 1. Hasil Uji Antibakteri Nanopropolis Terhadap Bukan Nanopropolis

Perlakuan (%)	Diameter zona bening (mm)			Rata-rata (mm)
	Ulangan ke-1	Ulangan ke-2	Ulangan ke-3	
Nk 10	12,87	14,60	14,20	13,89
Pk 10	13,47	10,5	13,4	12,46
Nk 5	14,23	13,11	13,37	13,57
Pk 5	13,67	12,8	14,2	13,56
Nk 2,5	7,00	4,23	3,97	5,07
Pk 2,5	9,03	10,77	13,37	11,06
Nk1,25	7,43	15,87	13,83	12,38
Pk 1,25	14,73	12,67	12,8	13,40
Nk 0,625	6,27	6,07	6,13	6,16
Pk 0,625	14,37	9,00	13,13	12,17
Nk 0,30	8,80	9,60	5,93	8,11
Pk 0,30	12,63	8,80	13,93	11,79
Nk 0,15	7,60	12,83	9,10	9,84
Pk 0,15	7,77	6,80	7,83	7,47
Nk 0,075	3,17	3,17	3,67	3,34
Pk 0,075	0,00	0,00	0,00	0,00
Nk 0,037	3,10	3,50	4,00	3,53
Pk 0,037	0,00	0,00	0,00	0,00
Nk 0,02	2,97	4,27	5,63	4,29
Pk 0,02	0,00	0,00	0,00	0,00

Keterangan : Nk = nanopropolis konsentrasi, PK = bukan nanopropolis konsentrasi



Gambar 5. Grafik diameter zona hambat nanopropolis dan bukan nanopropolis terhadap *E. coli*

Hasil pengujian KHTM propolis bukan nanopartikel terhadap bakteri *E. coli* menunjukkan bahwa hambatan pertumbuhan bakteri terjadi pada 'propolis bukan nanopartikel' pada konsentrasi 0,15%. Tabel 1 dan Gambar 5 menunjukkan aktivitas antibakteri dari 'propolis bukan nanopartikel' berupa diameter zona hambatan. Selanjutnya pada bukan nanopropolis konsentrasi 10% mempunyai aktifitas antibakteri yang hampir sama dengan 'bukan nanopropolis' konsentrasi 5, 2,5, 1,25, 0,625 dan 0,3%, tetapi 'bukan nanopropolis' pada konsentrasi 10% dengan 'bukan nanopropolis' 0,15, 0,075, 0,037 dan 0,02% menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda antara konsentrasi bukan nanopropolis terhadap rata-rata pertumbuhan *E. coli*.

Diameter hambatan yang terbentuk pada semua konsentrasi 'bukan nanopropolis' ini juga tidak linier. Secara umum berdasarkan hasil penelitian yang dapat dilihat dari daerah bening yang terbentuk, makin besar konsentrasi propolis, maka daya antibakterinya makin besar pula hal ini dikarenakan senyawa aktifnya makin bertambah dan makin mudah penetrasinya di dalam sel. Terjadinya hambatan yang tidak linear ini diduga disebabkan oleh beberapa faktor yaitu jumlah larutan yang dipipet tidak seluruhnya masuk ke dalam sumur, tinggi media agar yang tidak rata, serta pembentukan diameter sumur yang tidak seragam dan kemampuan media dalam menyerap larutan yang ditotolkan (Sabir, 2005).

Uji KHTM Propolis Nanopartikel terhadap 'Propolis bukan Nanopartikel'

Berdasarkan pengukuran zona bening seluruh konsentrasi yang digunakan pada propolis nanopartikel dari konsentrasi 10% hingga konsentrasi terendah 0,02 % masih menunjukkan adanya aktifitas antibakteri yang ditunjukkan lewat terbentuknya zona bening disekitar sumur. Pada propolis bukan nanopartikel dari konsentrasi 10% hingga konsentrasi 0,15% menunjukkan adanya aktifitas antibakteri. Dari data pengukuran ini menunjukkan bahwa propolis nanopartikel lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* di banding propolis bukan nanopartikel. Pada nanopropolis sampai konsentrasi terendah yaitu nanopropolis pada konsentrasi 0,02 % masih mampu memberikan hambatan terhadap *E. coli* dengan diameter hambatan sebesar 4,29 mm sedangkan pada bukan nanopropolis konsentrasi terendah yang masih menunjukkan hambatan terhadap pertumbuhan *E. coli* adalah konsentrasi 0,15% sedangkan pada konsentrasi 0,075 sampai 0,02% tidak menunjukkan adanya aktifitas antibakteri. Hal ini diduga terjadi karena nanopropolis ukurannya lebih kecil sehingga bentuk dan ukuran

partikel sangat berpengaruh dalam proses kelarutan, absorpsi dan distribusi obat. Jika ukuran partikel makin kecil maka luas permukaan partikel makin besar sehingga laju dari larutan semakin meningkat dan akan mempercepat penyerapan obat melalui peredaran darah sehingga efek terapeutiknya lebih cepat tercapai (Martin, 1993).

Faktor yang mempengaruhi keefektifan dari nanopropolis lainnya adalah kadar air pada nanopropolis memenuhi syarat yaitu 3,58 dan kadar air bukan nanopropolis tidak memenuhi syarat yaitu 5,64% (syarat kadar air serbuk $\leq 5\%$). Kadar air ini sangat berpengaruh terhadap penimbangan senyawa aktif obat, jika kadar airnya makin besar dikhawatirkan jumlah senyawa aktif yang tertimbang akan berkurang sehingga mengurangi keefektifan dari obat tersebut.

KESIMPULAN

Nanopropolis tersulut yang dihasilkan berwarna putih dan halus. Hasil SEM menunjukkan adanya ukuran nanopropolis sebesar 100 nm. Konsentrasi 0,02 % menunjukkan konsentrasi yang masih aktif dari nano propolis.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, E., Joshita D., Yanuar, A. & Bahtiar, A. 2004. Pemanfaatan maltodekstrin pati terigu sebagai eksipien dalam formula sediaan tablet dan niosom. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 1:34-46.
- Bhaskar, K., Anbu, J., Ravichandiran, V., Venkateswarlu, V. & Rao, Y. M. 2009. Lipid nanoparticles for transdermal delivery of flurbiprofen: formulation, in vitro, ex vivo and in vivo studies. *Lipids in Health and Disease* 8:6-7.
- Dressman JB, Amidon GL, Reppas C. & Shah VP. 1998. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. *Pharmaceutical Research* 15:11-22.
- Fatoni A. 2008. Pengaruh propolis *Trigona* spp asal Bukittinggi terhadap beberapa bakteri usus halus sapi dan penelusuran komponen aktifnya [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Hasan, AEZ. 2006. *Potensi Propolis Lebah Madu Trigona spp sebagai Bahan Antibakteri*. Bogor: Seminar Nasional HKI.
- Horter D. & Dressman J B. 2001. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Advanced Drug Delivery Reviews* 46:75-87.
- Merisko-Liversidge E, Liversidge GG. & Cooper RR. 2003. Nanosizing: a formulation approach for poorly-water-soluble compounds. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 18:113-120.

Muller RH, Krause K. & Mader K, penemu; PCT Patent Application. Method for controlled production of ultrafine microparticles and nanoparticles. 2001/03670 A1 July 10, 2000.

Muller RH, Jacobs C. & Kayser O. 2001. Nanosuspensions as particulate drug formulation in therapy rational for development and what we can expect for the future. *Advanced Drug Delivery Reviews* 47:3-19.