

PENERAPAN TEKNOLOGI NANOPARTIKEL PROPOLIS *TRIGONA* SPP ASAL BOGOR SEBAGAI ANTIBAKTERI *ESCHERICHIA COLI* SECARA *IN-VITRO*

¹⁾Prasetyorini, ²⁾AE. Zainal Hasan, ³⁾Rofiqoh Siregar

¹⁾ FMIPA Universitas Pakuan, ²⁾ Departemen Biokimia IPB, ³⁾ Farmasi Universitas Pakuan

ABSTRAK

Penelitian penerapan nanopartikel propolis *Trigona* spp asal Bogor sebagai antibakteri *Escherichia coli* secara *in-vitro* bertujuan membuat sediaan nanopartikel dari propolis *Trigona* spp asal Bogor (nanopropolis). Pembuatan nanopropolis dilakukan dengan cara penyalutan dan homogenizer pada kecepatan 22.000 rpm selama satu jam. Dalam penelitian ini dilakukan melalui empat tahap, yaitu tahap ekstraksi raw propolis *Trigona* spp, tahap pembuatan sediaan nanopropolis, tahap melakukan uji aktivitas nanopropolis sebagai antibakteri dan menentukan konsentrasi hambat tumbuh minimum (KHTM) nanopropolis terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Propolis *Trigona* spp asal Bogor dapat dibuat nanopartikel dengan ukuran partikel mencapai 192 – 273 nm. Ukuran partikel nanopropolis dideteksi menggunakan *Scanning Electron Microscopy*. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,02%-10% nanopropolis aktif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Konsentrasi hambat tumbuh minimum nanopropolis berada di bawah konsentrasi 0,02%. Ketika dibandingkan dengan sediaan tanpa teknologi nano (propolis biasa), pada kondisi konsentrasi sama nanopropolis lebih efektif daripada propolis biasa karena zona hambat yang dihasilkan lebih besar.

Kata kunci : *Trigona* spp, propolis, dan teknologi nano

PENDAHULUAN

Berbagai hal telah dilakukan dalam upaya memperbaiki kesehatan, salah satunya yaitu penggunaan bahan-bahan yang berasal dari alam sebagai bahan baku. Propolis adalah salah satu hasil bahan alam dari hewan yang digunakan sebagai bahan baku obat yang bermanfaat sebagai antibakteri. Propolis merupakan getah yang dikumpulkan oleh lebah dari berbagai pucuk tanaman dan dari tanaman yang patah di mana getah tanaman tersebut kemudian dicampur dengan enzim yang terdapat dalam kelenjar ludah lebah dan digunakan untuk melindungi sarang dari berbagai bakteri, virus, dan jamur.

Hasan (2006) melaporkan propolis hasil ekstrak etanol 70% dapat digunakan sebagai senyawa antibakteri, baik bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*), maupun bakteri gram negatif (*Escherichia coli*). Konsentrasi

hambat tumbuh minimum dari ekstrak propolis masing-masing untuk setiap bakteri adalah 0,39% terhadap *Staphylococcus aureus*, 0,78% terhadap *Bacillus subtilis* dan 0,78% terhadap *E. coli*. Kwon *et al.*, dalam Fearnley (2001) menyatakan bahwa pemakaian propolis akan mengurangi diare anak sapi yang diinfeksi *E. coli*.

Teknologi nano merupakan *trendsetter* baru dalam dunia ilmu pengetahuan. Nanoteknologi adalah teknologi yang mampu menyiapkan bahan aktif obat dalam partikel dengan ukuran nanno (seperjuta meter) dengan ketepatan lebih kecil dari satu mikrometer. Di Indonesia teknologi nanopartikel terutama untuk herbal masih belum dikembangkan. Sementara itu, efektifitas suatu obat akan tercapai setelah melalui proses LADME (Liberasi, Absorpsi, Distribusi, Metabolisme dan Ekskresi). Bentuk dan ukuran

Penerapan Teknologi Nanopartikel Propolis *Trigona* Spp(Prasetyorini,dkk)

partikel merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi efektifitas`obat, karena ukuran partikel sangat berpengaruh dalam proses kelarutan, absorpsi dan distribusi obat. Oleh sebab itu, melalui kegiatan penelitian ini akan dikembangkan inovasi teknologi sediaan propolis asal Bogor dalam bentuk nanopartikel dengan kapasitas antibiotik yang tinggi.

Penelitian ini bertujuan untuk membuat sediaan nanopartikel dari propolis *Trigona* spp dan melakukan uji aktivitasnya sebagai antibakteri serta mengukur Konsentrasi Hambat Tumbuh Maksimum dari nanopropolis pada bakteri *Escherichia coli*. Adapun hipotesis yang diajukan adalah popolis *Trigona* spp asal Bogor dapat dibuat nanopartikel dan lebih aktif dibandingkan propolis tanpa teknologi nano.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan selama tiga bulan, Juni 2009 sampai September 2009, bertempat di Laboratorium Biokimia Institut Pertanian Bogor Dramaga dan Badan Tenaga Atom Nasional Serpong. Bahan-bahan yang digunakan antara lain, propolis kasar *Trigona* spp yang berasal dari Bogor, etanol 70%, media PYG (*Peptone Yeast Glukosa*), media cair (*Nutrient Broth*), aquadest, maltodekstrin, Mg Stearat, *Escherichia coli*, dan kloramfenikol 250 mg (sebagai kontrol positif).

Alat-alat yang digunakan antara lain autoklaf, penangas air bergoyang (*shaker*), rotavapor, *vacuum dryer*, homogenator, *laminar air flow*, *wrap*, cawan petri, aluminium foil, *spektrofotometer*, jarum ose, pipet tetes, beberapa alat gelas, mikropipet, inkubator suhu, neraca analitik, kertas saring, segitiga penyebar, jangka sorong, *High Energy Milling* (HEM), dan *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

Metode Penelitian

Ekstraksi Propolis *Trigona* spp

Propolis diekstraksi menggunakan dengan maserasi metode Hasan (2006). Sebanyak 300 g propolis kasar *Trigona* spp direndam dengan 650 mL etanol 70%. Suspensi tersebut ditutup aluminium foil dan dikocok dengan *shaker* di ruang gelap selama satu minggu. Selanjutnya, suspensi disaring, residu yang tersisa diekstrak kembali dengan 50 ml etanol 70%, dikocok 24 jam dengan kecepatan 120 rpm, dan filtrat didekantasi lagi. Ekstraksi residu diulang sampai 7 hari, sehingga total pelarut yang digunakan 1000 ml, dan total waktu maserasi 14 hari. Teknik maserasi diakhiri apabila warna filtrat terakhir berwarna jernih. Seluruh filtrat yang terkumpul kemudian dipekatkan dengan rotavapor pada suhu $\leq 50^{\circ}$ C. Ekstrak pekat yang diperoleh kemudian ditimbang untuk mendapatkan nilai rendemennya. Selanjutnya ditambahkan etanol sebanyak satu kali volume ekstrak (1:1), dan ini disebut dengan ekstrak etanol propolis (EEP) 100%.

Pembuatan Propolis 20%

Ekstrak etanol propolis 100% sebanyak 20 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml dan ditambahkan dengan 120 ml etanol 70%. Bahan penyalut maltodekstrin sebanyak 85 g dilarutkan dalam akuades 80 ml dan ditambahkan Mg stearat sebanyak 5 g lalu diaduk dengan *stirrer* sampai tercampur rata selama 30 menit. Selanjutnya, larutan dicampurkan dengan propolis yang terlarut dengan etanol 70% dan dengan cepat campuran diaduk dengan *stirrer* kembali selama 30 menit. Kemudian, larutan dikeringkan dengan *vacuum dryer* pada suhu $\leq 50^{\circ}$ C.

Pembuatan Nanopropolis 20%

Pembuatan nanopropolis 20% dilakukan dengan metode modifikasi Bhaskar *et al.*, 2009. Sejumlah 20 g ekstrak etanol propolis 100% dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml dan ditambahkan

Penerapan Teknologi Nanopartikel Propolis *Trigona* Spp(Prasetyorini,dkk)

dengan 120 ml etanol 70%. Bahan penyalut maltodekstrin sebanyak 85 gram dilarutkan dalam akuadest 80 mL dan ditambahkan Mg stearat sebanyak 5 gram lalu diaduk dengan *stirrer* sampai tercampur rata, kemudian dengan cepat dihomogenisasi pada kecepatan 22.000 rpm selama 30 menit. Selanjutnya setelah 30 menit penyalut dihomogenisasi, propolis yang telah terlarut dengan etanol 70% dicampurkan dan dengan cepat campuran dihomogenisasi kembali pada kecepatan 22.000 rpm selama 30 menit. Setelah itu, larutan dikeringkan dengan *vacuum dryer* pada suhu 50° C. Serbuk yang terbentuk kemudian dihaluskan dan disamaratakan dengan *High Energy Milling* (HEM) sehingga akan terbentuk partikel berukuran nano dan pengidentifikasian ukurannya dilakukan menggunakan SEM.

Karakterisasi Sampel Dengan SEM

Sampel dikarakterisasi menggunakan alat SEM di BATAN. Plat platinum disiapkan terlebih dahulu lalu diambil secuplik sampel dan diletakkan pada permukaan plat. Sampel terlebih dahulu *dicoating* (dilapisi) dengan emas. Sampel yang telah dilapisi lalu diamati dengan SEM

Pengujian Kadar Air

Sediaan nanopropolis dan propolis biasa yang telah dibuat dihitung kadar airnya menggunakan *Moustrure Balance* dengan suhu 105⁰ C dan rentang waktu pengukuran 10 menit.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode perforasi atau metode sumur (Andrews, 2001). Sampel untuk uji aktivitas antibakteri adalah larutan propolis biasa dan larutan nanopartikel propolis yang dibuat masing-masing sebanyak 10 seri konsentrasi. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol kapsul 250 mg dengan konsentrasi 10 mg/ml. Kontrol negatif yang digunakan adalah etanol 1% dan aquadest.

Penerapan Teknologi Nanopartikel Propolis *Trigona* Spp(Prasetyorini,dkk)

Regenerasi Bakteri Uji

Bakteri yang akan dipakai diregenerasikan terlebih dahulu. Bakteri yang berasal dari kultur primer mula-mula dibiakkan ke dalam agar miring *Nutrient agar* (NA), kemudian di ambil satu ose dan digoreskan ke dalam agar miring lalu diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Biakan ini merupakan aktivitas awal stok bakteri yang disimpan pada suhu 4-5° C. Kultur regenerasi ini akan digunakan sebagai stok kerja yang digunakan pada uji aktifitas antibakteri.

Preparasi Inokulum

Sebanyak satu ose bakteri dari stok biakan dibiakkan dalam media cair, NB (*nutrient Broth*) diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Biakan segar diukur densitas optiknya. Jika densitas optiknya > 0,5, untuk inokulasi di ambil 50 µL. Jika densitas optiknya < 0,5, untuk inokulasi di ambil 100 µL.

Uji Pendahuluan Aktivitas Antibakteri

a). Ekstrak Propolis

Uji pendahuluan aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumur. Sebanyak satu ose bakteri dari stok biakan diambil lalu diinkubasi di dalam 10 ml media cair (*Nutrient Broth*) selama 18-24 jam pada suhu 37° C dalam inkubator dan sambil dikocok menggunakan penangas air bergoyang. Selanjutnya dari biakan diambil 50µL bakteri dan disebar di dalam cawan Petri, yang telah berisi media Agar PYG (*Peptone yeast Glucose*) bersuhu ± 45° C, kemudian cawan digoyangkan agar bakteri tersebar rata. Selanjutnya didiamkan pada suhu kamar sampai media agar memadat. Setelah memadat agar dilubangi dengan diameter ± 5 mm. Ke dalam lubang tersebut dimasukkan ekstrak etanol propolis sebanyak 50µL dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Daerah bening yang terlihat disekeliling lubang menandakan adanya aktivitas antibakteri.

b). Sediaan Nanopropolis dan Propolis Biasa

Uji pendahuluan juga dilakukan pada sediaan nanopropolis dan propolis biasa, yaitu dengan cara: Biakan bakteri yang telah dibuat dan dikur densitas optiknya, disebar ke dalam petri yang telah berisi media agar PYG (*Peptone yeast Glucose*) bersuhu $\pm 45^{\circ}$ C, kemudian cawan digoyangkan agar bakteri tersebar rata. Selanjutnya didiamkan pada suhu kamar sampai media agar memadat. Setelah memadat agar dilubangi dengan diameter ± 5 mm. Ke dalam lubang tersebut masing-masing dimasukkan nanopropolis dan propolis biasa sebanyak 50 μ L. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 $^{\circ}$ C selama 24 jam. Daerah bening yang terlihat disekeliling lubang menandakan adanya aktivitas antibakteri.

Penyiapan Larutan Nanopropolis

Nanopropolis yang diperoleh dilarutkan dalam aquadest dengan perbandingan 1:1 (b/b), sehingga diperoleh larutan nanopropolis dengan kadar 20% kemudian diencerkan menggunakan aquadest. Jangkauan pengenceran yang digunakan pada formula nanopropolis ini adalah: (10%; 5%; 2,5%; 1,25%; 0,625%; 0,31%; 0,15%; 0,078%; 0,04%; dan 0,02%). Seri pengenceran ini dibuat dengan melarutkan nanopropolis dengan aquadest. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada propolis biasa.

Uji KHTM Nanopropolis dan Propolis Biasa

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumur (Andrews, 2001). Sebanyak 50 μ L bakteri hasil inokulasi pada media cair dimasukkan ke dalam cawan Petri steril yang telah berisi 10 ml PYG padat. Kemudian dibuat lubang (sumur) berdiameter kira-kira 5 mm menggunakan tip mikropipet. Ke dalam setiap sumur dimasukkan 50 μ L larutan nanopropolis untuk tiap konsentrasi, propolis biasa, kontrol positif dan negatif

pada sumur-sumur lainnya. Cawan ditutup rapat dengan *wrap* dan diinkubasi pada suhu 37 $^{\circ}$ C selama 24 jam. Setelah 24 jam diinkubasi, dilakukan pengamatan dan pengukuran daerah bening disekitar sumur.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap, data yang diperoleh dianalisis dengan analisis ragam pada selang kepercayaan 95% dan taraf α 0,05. Seluruh data dianalisis menggunakan program SPSS 17,00

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Propolis

Ekstrak propolis *Trigona* spp berwarna merah kecoklatan serta tidak larut dalam air. Rendemen ekstrak yang didapat sebesar 27,350 g (9,12%). Hasil sediaan propolis biasa berbentuk serbuk yang sangat kering. Warna coklat, kadar air 5,38%. bertekstur kasar dan ukuran partikel tidak merata (Gambar 1)



Gambar 1. Serbuk propolis biasa

Sediaan nanopropolis yang dihasilkan berbentuk serbuk yang sangat kering, agak kasar dan bergerombol, selanjutnya dihaluskan dengan HEM dengan kecepatan ± 916 rpm dan frekuensi 28,8 Hz selama 15 menit. Hasil pembuatan nanopartikel disajikan pada Gambar 2.

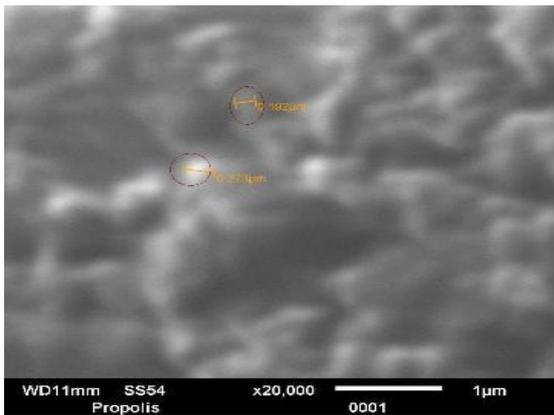


Gambar 2 Serbuk nanopropolis

Penerapan Teknologi Nanopartikel Propolis *Trigona* Spp(Prasetyorini, dkk)

Karakterisasi SEM Nanopropolis

Hasil observasi menggunakan SEM memperlihatkan morfologi partikel nanopropolis terlihat tidak seragam, bentuk tidak simetris dengan tepian kurang rata, namun dengan persebaran yang sudah jelas (tidak bergerombol), kadar air 4,42%. Ukuran partikel terkecil yang masih terukur sebesar 192 nm-273 nm (Gambar 3).



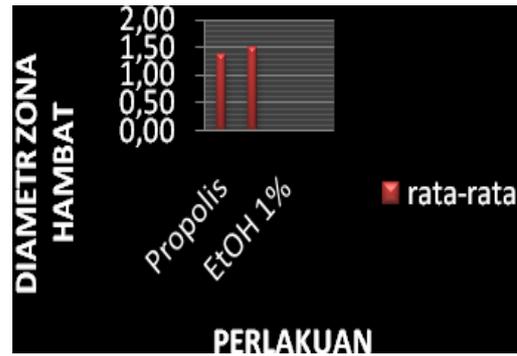
Gambar 3 Ukuran partikel nanopropolis dengan SEM

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Propolis

Hasil uji pendahuluan ekstrak propolis terhadap bakteri *E. coli* menunjukkan bahwa ekstrak propolis 100% aktif sebagai antibakteri ditandai dengan adanya zona hambat di sekitar sumur. Data hasil uji dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji pendahuluan zona hambat (cm) ekstrak etanol propolis

Perlakuan	Ulangan ke-			rata (cm)
	1	2	3	
Eks Propolis	1,33	1,36	1,38	1,36
Kloramfenikol	1,49	1,52	1,50	1,50
EtOH 1%	0,00	0,00	0,00	0,00
Aquadest	0,00	0,00	0,00	0,00

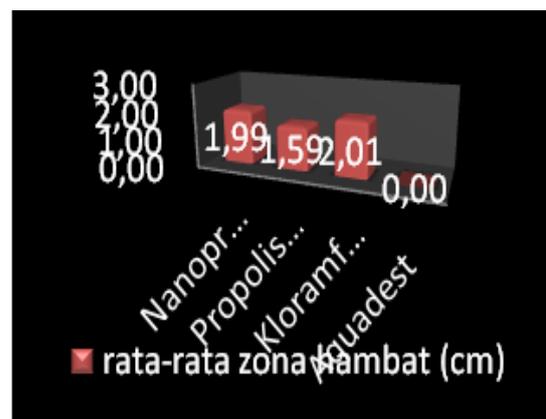


Gambar 4 Histogram Zona Hambat Ekstrak Etanol Propolis

Dari histogram diatas dapat terlihat bahwa ekstrak propolis aktif sebagai antimikroba seperti kloramfenikol. Sedangkan etanol 1% dan aquadest yang digunakan sebagai pelarut tidak memberikan zona hambat.

(b) Nanopropolis dan Propolis Biasa

Sediaan nanopropolis dan propolis biasa 10% aktif sebagai antibakteri, ditandai dengan adanya zona hambat disekitar sumur, masing-masing nanopropolis dan propolis biasa sebesar 1,99 cm dan 1,59 cm. Untuk lebih jelasnya hasil uji dapat dilihat pada tabel dan gambar di bawah ini.



Gambar 5 Histogram zona hambat nanopropolis, propolis biasa dan kontrol

Tabel 2. Uji pendahuluan zona hambat (cm) nanopropolis, propolis biasa dan kontrol

Perlakuan	Ulangan ke-			Rata ² (cm)
	1	2	3	
Nanopropolis 10%	2,40	1,57	1,99	1,99
Propolis biasa 10%	2,09	1,53	1,16	1,59
Kloramfenikol	2,42	1,97	1,63	2,01
Aquadest	0,00	0,00	0,00	0,00

Efektifitas Nanopropolis Terhadap Propolis Biasa.

Keefektifitasan nanopropolis 10% terhadap propolis biasa 10% sebesar 125,16%. Berdasarkan besarnya presentase efektifitas nanopropolis terhadap propolis biasa, maka aktivitas nanopropolis terhadap *E coli* lebih besar dan lebih baik dibandingkan propolis biasa. Perbedaan efektifitas ini diduga karena berbedanya ukuran partikel pada kedua sediaan, sehingga berpengaruh terhadap kelarutan dan jumlah obat yang terserap.

Efektifitas Nanopropolis dan Propolis Biasa Terhadap Kloramfenikol

Efektivitas nanopropolis 10% terhadap kloramfenikol adalah 99%. Sedangkan propolis biasa 10% sebesar 79%. Berikut diperlihatkan keefektifitasanya secara grafik.



Gambar 7. Histogram efektifitas nanopropolis 10%, propolis biasa 10% dan kloramfenikol

Dari histogram diatas dapat terlihat bahwa nanopropolis dan propolis biasa berada di bawah kloramfenikol. Nilai efektifitas tersebut berbeda dan aktivitas kloramfenikol lebih besar karena perbedaan tingkat sensitifitas bakteri terhadap antibakteri..

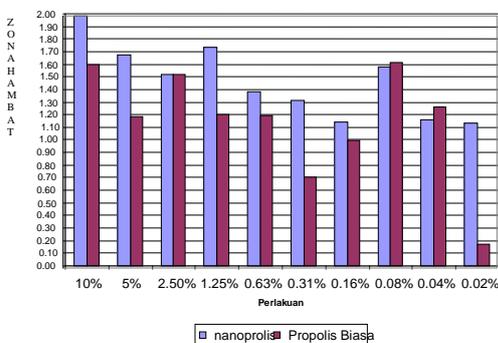
Keuntungan dari penggunaan nanopropolis adalah propolis bersifat sebagai antimikroba alami yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen tanpa mematikan bakteri yang menguntungkan bagi tubuh, sedangkan antibiotik sintetik bersifat bakteriosidal yang mematikan seluruh bakteri yang menguntungkan juga (Fajrina, 2009).

Konsentrasi Hambat Tumbuh Minimum Nanopropolis dan Propolis Biasa.

Uji aktivitas antibakteri dari variasi konsentrasi larutan propolis terhadap bakteri *Escherichia coli* dinyatakan sebagai rata-rata zona hambat disekitar sumur. Dari 10 konsentrasi, zona hambat yang dihasilkan berbeda-beda. Secara keseluruhan makin kecil konsentrasi daya hambat bakteripun makin kecil. Tetapi ada 2 konsentrasi yang menyimpang (0,05% dan 0,08%), dimana zona hambatnya lebih tinggi dibandingkan konsentrasi diatasnya. Hal ini merupakan galat pekerjaan, yang diduga oleh tiga kemungkinan, yaitu media cair yang dimasukkan ke dalam cawan untuk dicampurkan dengan biakan bakteri, suhunya masih relatif tinggi, kemungkinan kedua adalah media yang ditambahkan ke dalam cawan sudah dingin dan menyebabkan media memadat, dan kemungkinan terakhir yaitu kurangnya volume larutan propolis yang dimasukkan. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa zona hambat pada 10 konsentrasi nanopropolis tidak berbeda nyata ($P < 0,05$). Hasil analisis ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi rendahpun, nanopropolis memiliki keefektifitasan yang hampir sama dengan konsentrasi tinggi.

Hasil uji propolis biasa secara keseluruhan menunjukkan bahwa makin kecil konsentrasi, daya hambat terhadap bakteripun makin kecil. Tetapi ada beberapa penyimpangan yang terjadi yaitu pada konsentrasi 2,5%, 0,08% dan 0,04%. Penyebab penyimpangan ini sama halnya dengan penyimpangan pada nanopropolis.. Hasil uji secara statistik menunjukkan bahwa propolis biasa pada 10 konsentrasi berbeda nyata ($P < 0,05$) dan signifikan ($\alpha > 0,05$).

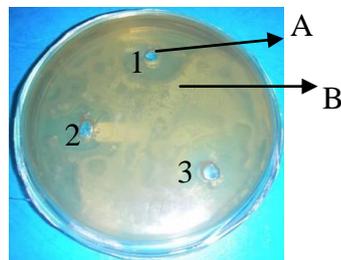
Selanjutnya data hasil uji nanopropolis dan propolis biasa pada 10 konsentrasi dapat dilihat pada histogram di bawah ini.



Gambar 8 Histogram zona hambat nanopropolis dan propolis dalam 10 konsentrasi.

Dari histogram diatas dapat terlihat bahwa pada setiap konsentrasi, nanopropolis lebih aktif dibandingkan propolis biasa, kecuali konsentrasi 0,08% dan 0,04%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi yang sama nanopropolis lebih aktif dibandingkan propolis biasa. Ini disebabkan oleh lebih kecilnya bentuk dan ukuran partikel nanopropolis, sehingga daya larut dan daya serap obat lebih cepat. Keaktifan nanopropolis juga terlihat dari perhitungan statistik. Secara keseluruhan, nanopropolis lebih baik daripada propolis biasa karena rata-rata zona hambat yang dihasilkan secara keseluruhan lebih besar dibandingkan propolis biasa. Gambar zona

hambat yang dihasilkan oleh nanopropolis dan propolis biasa disajikan dalam Gambar 9.



Gambar 9. Zona hambat, 1, nanopropolis, 2 propolis biasa dan 3, kloramfenikol

Pada 10 konsentrasi yang diberikan, nanopropolis dan propolis biasa masing-masing menghasilkan zona hambat seperti gambar diatas. Sehingga KHTM nanopropolis dan propolis biasa belum ada pada kesepuluh konsentrasi. Nilai KHTM nanopropolis dan propolis biasa berada dibawah konsentrasi 0,02%..

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

- Propolis *Trigona* spp asal Bogor dapat dibuat dalam bentuk nanopartikel dengan ukuran 192-273 nm.
- Secara keseluruhan nanopropolis lebih efektif sebagai antibakteri *E coli* dibandingkan propolis biasa
- KHTM nanopropolis dan propolis biasa berada di bawah konsentrasi 0,02%.
- Rendemen yang dihasilkan dari ekstraksi *trigona* spp sebesar 9,12%.

Saran

Perlu dilakukan pembuatan dan pengujian terhadap sediaan nanopropolis menggunakan metode lain. Perlu dilakukan uji lanjutan secara *in-vivo*. Serta untuk mendapatkan nilai KHTM dari nanopropolis perlu dilakukan pengenceran di bawah konsentrasi 0,02%.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrew JM. 2001. *Determination of minimum inhibitory concentrations*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2001. 48.suppl, SI, 5-16
- Allemann E, Gurny R, and Doelker E. 1993. *Drug loaded nanoparticles preparation methods and drug targeting issue*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 39, 173-191.
- Angraini AD. 2006. *Potensi Propolis Lebah Madu Trigona spp sebagai Bahan Antibakteri*. [skripsi]. Program Studi Biokimia FMIPA, IPB, Bogor
- Anonim. 2008. *Teknologi nano*. <http://biomineral.com/2008/05/26/teknologi-nano>. (05 Maret 2008).
- Brigger I, Dubernet C, and Couvreur P. 2002. *Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis*. Advanced Drug Delivery Reviews 54, 631-651.
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia, Edisi IV*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. Hal: 65, 1009-10.
- Fahri VR. 2009. *Potensi Nanopropolis Trigona spp Asal Bukittinggi Sebagai Pemacu Pertumbuhan Pada Tikus Putih (Sprague-Dauley)* [Skripsi]. IPB, Bogor.
- Fajrina I. 2009. *Ketahanan tablet Propolis Trigona spp sebagai antibakteri terhadap cairan rumen in-vitro*. [skripsi]. Program Studi Biokimia FMIPA, IPB, Bogor
- Fatoni A. 2008. *Pengaruh Propolis Trigona spp Asal Bukit Tinggi Terhadap Beberapa Bakteri Usus Halus Sapi Dan Penelusuran Komponen Aktifnya* [Tesis]. Sekolah PascaSarjana IPB, Bogor.
- Fearnley, J. 2001. *Bee propolis : Natural Healing from the Hive*. Souvenir Press ltd: London.
- Hadioetomo, R. S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek dan Prosedur dasar Laboratorium*. Jakarta. PT. Gramedia. Hal: 53-56.
- Handbook of Pharmaceutical Exipients Fourth edition*. Raymond C Ravo Paul J Sheskey, Paul J Weller. Royal Pharmaceutical Society of Great Britain. UK: London
- Hasan, A E Z. 2006. *Potensi Propolis Lebah Madu Trigona spp. Sebagai Bahan Antibakteri*. Seminar Nasional HKI: Bogor.
- Jawezt, E, Melnick, J. L dan Adelberg, E.A. 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*. Terjemahan Irawati Setiawati. Edisi ke-20. Penerbit Buku kedokteran. ECG. Jakarta.Hal: 211-239.
- Lachman L, H. A. Lieberman, J. L. Kaning. 1994. *Teori dan Praktek Farmasi Industri* jilid II. Terjemahan Siti Suyatmi. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Tukan GD. 2008. *Pengaruh Propolis Trigona spp Asal Pandeglang Terhadap Beberapa Isolat Bakteri Usus Sapi dan Penelusuran Komponen Aktifnya* [tesis]. Sekolah Pascasarjana IPB, Bogor.