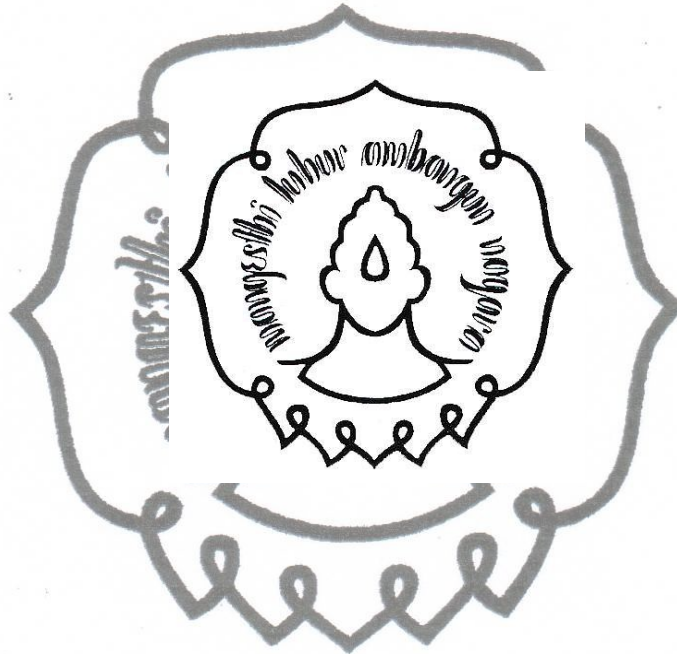


**PERBEDAAN KADAR *CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER* PADA  
PROPOLIS EKSTRAK ETANOL DAN PROPOLIS EKSTRAK AIR**

**SKRIPSI**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**Riani Dwi Hastuti  
G.0009182**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
Surakarta  
2012**

*commit to user*

**PERBEDAAN KADAR *CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER* PADA  
PROPOLIS EKSTRAK ETANOL DAN PROPOLIS EKSTRAK AIR**

**SKRIPSI**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**Riani Dwi Hastuti**

**G.0009182**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET**

**Surakarta**

**2012**

*commit to user*

**PENGESAHAN SKRIPSI**

Skripsi dengan judul: **Perbedaan Kadar *Caffeic Acid Phenethyl Ester* Pada Propolis Ekstrak Etanol dan Propolis Ekstrak Air**

Riani Dwi Hastuti, NIM: G.0009182, Tahun: 2012

Telah diuji dan sudah disahkan di hadapan **Dewan Penguji Skripsi**  
Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Pada Hari Kamis, Tanggal 26 Juli 2012

**Pembimbing Utama**

Nama : Diding Prasetyo, dr., M. Si

NIP : 19680429 199903 1 001 .....

**Pembimbing Pendamping**

Nama : Sri Hartati H., Dra, Apt., S. U

NIP : 19490709 197903 2 001 .....

**Penguji Utama**

Nama : R.P. Andri Putranto, dr., M. Si

NIP : 19630525 1996 1 001 .....

**Anggota Penguji**

Nama : Sarsono, Drs., M. Si

NIP : 19581127 198601 1 001 .....

Surakarta,.....

Ketua Tim Skripsi

Dekan FK UNS

**Muthmainah, dr., M.Kes**

NIP : 19660702 199802 2 001

**Prof. Dr. Zainal Arifin Adnan, dr., SpPD-KR-FINASIM**

NIP : 19510601 197903 1 002

### PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan penulis juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.



Surakarta, 26 Juli 2012

**Riani Dwi Hastuti**

NIM. G0009182

## ABSTRAK

**Riani Dwi Hastuti, G.0009182, 2012.** Perbedaan Kadar *Caffeic Acid Phenethyl Ester* pada Propolis Ekstrak Etanol dan Propolis Ekstrak Air. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

**Latar Belakang:** Propolis adalah produk alami yang berasal dari resin tumbuhan yang dikumpulkan oleh lebah madu dan komposisinya terbukti memiliki berbagai aktivitas biologi. CAPE adalah ester asam *caffeic*, turunan asam fenolik yang memiliki struktur mirip flavonoid dan merupakan salah satu komponen utama pada propolis. CAPE dilaporkan dapat melindungi nefrotoksisitas akibat induksi cisplastin, menghambat pertumbuhan berbagai jenis sel yang abnormal, memiliki sifat antiinflamasi, aktivitas antioksidan, aktivitas siklooksigenase, aktivitas vasodilatasi pada aorta tikus, inhibitor potensial nitrit oksidan, inhibitor proses oksidatif, dan efektif menekan pertumbuhan katarak pada tikus. Propolis tidak dapat digunakan sebagai bahan mentah dan harus dimurnikan dengan ekstraksi menggunakan pelarut. Pelarut yang berbeda akan mengekstrak komponen yang berbeda serta mempengaruhi aktivitasnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan kadar CAPE pada propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air

**Metode Penelitian:** Penelitian ini adalah eksperimental murni dengan rancangan penelitian *the post test only group design*. Subyek dari penelitian ini adalah propolis mentah yang berasal dari peternakan lebah di daerah Gejen RT. 03 RW. 02 Kerjo Karanganyar. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara *purposive sampling*. Penentuan kadar CAPE pada propolis menggunakan UV Vis spektrofotometri dengan metode *Prussian Blue*. Pada tiap ekstrak propolis masing-masing dibuat lima sampel. Data kadar CAPE yang diperoleh dianalisis dengan uji statistik yaitu uji t tidak berpasangan.

**Hasil Penelitian:** Hasil penelitian didapatkan konsentrasi rata-rata CAPE pada propolis ekstrak etanol adalah  $12,268 \pm 0,658 \mu\text{g/mL}$  dan konsentrasi rata-rata CAPE pada propolis ekstrak air adalah  $5,564 \pm 0,332 \mu\text{g/mL}$ , dengan nilai  $p > 0.05$  ( $p = 0,125$ ).

**Simpulan Penelitian:** Tidak terdapat perbedaan kadar CAPE yang signifikan antara propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air.

---

**Kata kunci:** Propolis, CAPE, UV Vis spektrofotometer, *Prussian-blue*

## ABSTRACT

**Riani Dwi Hastuti, G.0009182, 2012.** The Difference of *Caffeic Acid Phenethyl Ester* Level in Ethanol Extract Propolis and Water Extract Propolis. Mini Thesis, Faculty of Medicine, Sebelas Maret University, Surakarta.

**Background:** Propolis is a natural product derived from plant resins collected by honeybees and its composition has been shown to have a wide range of biological activity. CAPE is the ester of caffeic acid, a derivative of phenolic acid, a flavonoid-like compound, one of the major components of propolis. CAPE was reported to protect nephrotoxicity due to cisplatin induction, inhibiting the growth of various types of abnormal cells, having antiinflammation activity, antioxidant activity, cyclooxygenase activity, vasodilatation activity in rat aorta, potential inhibitor of nitric oxidant, inhibitor of oxidative process, and effectively suppress the growth of cataracts in rats. Propolis can not be used as raw material, and it must be purified by extraction with solvents. Different solvents may extract different compounds, influencing its activity. The purpose of this research is to know the difference levels of CAPE in ethanol extract propolis and water extract propolis.

**Methods:** This research is pure experimental research using the post test only design. Sample of this research are raw propolis taken from bees farm in Gejen RT. 03 RW. 02 Kerjo Karanganyar. Sampling done by purposive sampling. Sample then extracted with maceration method with solvent ethanol and water. In each extract propolis each made five samples. The determination of the level of CAPE on propolis using UV Vis spectrophotometric with Prussian Blue method. The data of level CAPE is analyzed by statistical test, independent t test.

**Results:** The result shows that the average of CAPE level in ethanol extract propolis is  $12,268 \pm 0,658 \mu\text{g/mL}$  and the average of CAPE level in water extract propolis is  $5,564 \pm 0,332 \mu\text{g/mL}$ , with  $p > 0.05$  ( $p = 0.125$ ).

**Conclusion:** There are no significant differences between extract ethanol propolis and water extract propolis.

---

**Keyword:** Propolis, CAPE, UV Vis spectrophotometer, *Prussian-blue*

## PRAKATA

Alhamdulillah rabbil'alamin, segala puji bagi Allah SWT atas karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Perbedaan Kadar Caffeic Acid Phenethyl Ester pada Propolis Ekstrak Etanol dan Propolis Ekstak Air”**. Shalawat dan salam semoga tercurah kepada Nabi Muhammad SAW.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan program pendidikan dokter di Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. Dalam proses penyusunan skripsi ini, penulis menyadari bahwa tidak lepas dari bantuan dan dukungan berbagai pihak. Untuk itu, perkenankanlah penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Zainal Arifin Adnan, dr., Sp. PD-KR-FINASIM, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Muthmainah, dr., M.Kes., selaku Ketua Tim Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. Diding Prasetyo, dr., M.Si, selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, saran, serta motivasi bagi penulis.
4. Sri Hartati H., Dra, Apt., S. U, selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, saran, serta motivasi bagi penulis.
5. R.P. Andri Putranto, dr., M.Si, selaku penguji utama yang telah memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan penulisan skripsi ini.
6. Sarsono, Drs., M.Si, selaku penguji pendamping yang telah memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan penulisan skripsi ini.
7. Kedua orang tua penulis Ir. Swedianto dan Mariyani Ekowati SH, MM., adik-adik penulis Adyk Marga Raharja dan Muhammad Arief serta Ragil Angga Prastiya atas semangat, doa dan menemani setiap langkah penyusunan skripsi ini.
8. Devina, Nurrini dan Rizky sebagai teman seperjuangan penelitian yang selalu memberikan motivasi, bantuan, dukungan kepada penulis.
9. Seluruh staf Laboratorium Biokimia FK UNS.

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk dijadikan koreksi. Semoga hasil penelitian ini bisa diambil manfaat yang baik oleh masyarakat pada umumnya dan penulis pada khususnya.

Surakarta, 9 Juni 2012

*commit to user*

Penulis

## DAFTAR ISI

PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian .....	4
D. Manfaat Penelitian .....	4
1. ....	As
pek Teoritis.....	4
2. ....	As
pek Aplikatif.....	4
BAB II LANDASAN TEORI .....	5
A. Tinjauan Pustaka .....	
1. Propolis.....	
2. <i>Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)</i> .....	6
3. Ekstraksi .....	8

B. Kerangka Pemikiran .....	11
C. Hipotesis .....	11
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>12</b>
A. Jenis Penelitian .....	12
B. Lokasi Penelitian.....	12
C. Subjek Penelitian.....	12
D. Teknik Sampling.....	12
E. Rancangan Penelitian.....	12
F. Identifikasi Variabel Penelitian.....	15
G. Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	15
H. Instrumentasi Penelitian.....	16
I. Cara Kerja .....	16
J. Teknik Analisis Data Statistik.....	18
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>19</b>
<b>BAB V PEMBAHASAN .....</b>	<b>25</b>
<b>BAB VI SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>28</b>
A. Simpulan .....	28
B. Saran.....	28
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>29</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>34</b>

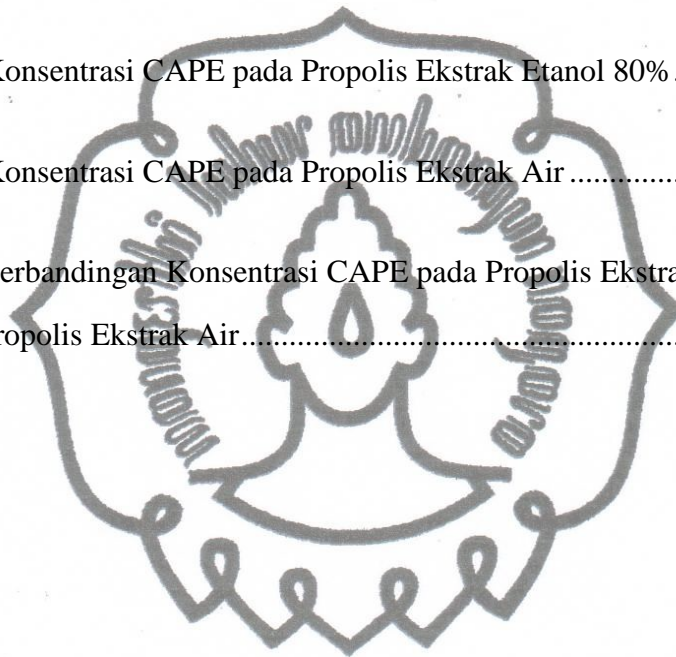
## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b> Struktur Kimia CAPE.....	7
<b>Gambar 2.2</b> Skema Kerangka Pikiran .....	11
<b>Gambar 3.1</b> Skema Rancangan Penelitian.....	13
<b>Gambar 4.1</b> Kurva Kalibrasi CAPE Standar dengan Pelarut Etanol 80% .....	20
<b>Gambar 4.2</b> Kurva Kalibrasi CAPE Standar dengan Pelarut Air .....	21



**DAFTAR TABEL**

<b>Tabel 2.1</b> Komposisi Senyawa Kimia Propolis (Krell, 1996).....	6
<b>Tabel 4.1</b> Nilai Absorbansi CAPE Standar dengan Pelarut Etanol 80%.....	20
<b>Tabel 4.2</b> Nilai Absorbansi CAPE Standar dengan Air .....	21
<b>Tabel 4.3</b> Konsentrasi CAPE pada Propolis Ekstrak Etanol 80% .....	22
<b>Tabel 4.4</b> Konsentrasi CAPE pada Propolis Ekstrak Air .....	22
<b>Tabel 4.5</b> Perbandingan Konsentrasi CAPE pada Propolis Ekstrak Etanol dan Propolis Ekstrak Air.....	23



**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran 1.</b> Uji Normalitas Distribusi.....	34
<b>Lampiran 2.</b> Uji Homogenitas dan <i>Independent t test</i> .....	35
<b>Lampiran 3.</b> Foto-Foto Penelitian .....	36



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang Masalah

Propolis adalah produk alami yang berasal dari resin tumbuhan yang dikumpulkan oleh lebah madu. Propolis telah secara luas digunakan dalam pengobatan tradisional dan terbukti memiliki berbagai aktivitas biologi antara lain antimikrobial, antiprotozoal, antiparasit, antiinflamasi, antiagen penyebab ulserasi, antitumor, antioksidatif, antiviral, dan hepatoprotektif. Selain dalam pengobatan tradisional, baru-baru ini propolis populer sebagai suplemen makanan di banyak negara dan dipercaya dapat meningkatkan kesehatan dan mencegah penyakit. (Bankova et al., 2000; Banksnot et al., 2001; Lotfy, 2006; Marcucci, 1995).

Komposisi propolis terutama tergantung pada tumbuh-tumbuhan dari daerah mana propolis dikumpulkan, waktu dikumpulkan, dan secara sekunder tergantung pada pelarut yang digunakan untuk ekstraksi (Bankova et al., 2000; Mishima, 2005). Akibatnya, terdapat lebih dari 160 komponen yang diidentifikasi dalam propolis diantaranya: senyawa aromatik, asam *prenykated p-coumaric*, derivat *acetophenone*, asam *caffeoylquinic*, lignan, asam *diterpenic*, *triteropene*, *monoterpenen*, *sesquiterpene*, gula, serta asam fenolik dan flavonoid sebagai komponen utama (Bankova et al., 1998).

Cuppett dalam Widjaja (2008) menyatakan bahwa *Caffeic acid phenethyl ester* (CAPE) adalah ester asam *caffeic*, turunan asam fenolik.

*commit to user*

CAPE memiliki struktur mirip flavonoid dan merupakan salah satu komponen utama pada propolis. CAPE dilaporkan dapat melindungi nefrotoksisitas akibat induksi cisplastin (Ozen et al., 2004) dan menghambat pertumbuhan berbagai jenis sel yang abnormal (Khayyal et al., 1993). Selain itu CAPE juga memiliki sifat antiinflamasi (Marquez et al., 2004), aktivitas antioksidan (Russo et al., 2002), aktivitas siklooksigenase (Rossi et al., 2002), aktivitas vasodilatasi pada aorta tikus (Cicala et al., 2003). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa CAPE terbukti berperan sebagai inhibitor potensial nitrit oksida (Nagaoka et al., 2003), inhibitor proses oksidatif (Frenkel et al., 1993), dan efektif menekan pertumbuhan katarak pada tikus (Doganay et al., 2001).

Propolis tidak dapat digunakan sebagai bahan mentah dan harus dimurnikan dengan ekstraksi menggunakan pelarut (Pietta et al., 2002). Cunha dalam Sforcin (2011) menyatakan bahwa pelarut yang berbeda akan mengekstrak komponen yang berbeda serta mempengaruhi aktivitasnya. Propolis biasanya diekstrak dengan menggunakan air dan berbagai konsentrasi etanol sebagai pelarut. Isosakuranetin, kuersetin, dan kaempferol kebanyakan diekstrak dari campuran propolis dengan etanol 60%. Etanol 70% kebanyakan mengekstrak pinocembrin dan sakuranetin. etanol 80% kebanyakan mengekstrak *kaempferide*, acacetin, dan isorhamnetin dari propolis. Propolis yang diekstrak dengan etanol 60-80% sangat menghambat pertumbuhan mikroba dan yang diekstrak dengan etanol 70%-80% mempunyai aktivitas antioksidan terbesar. Sedangkan 80% ekstrak etanol propolis sangat menghambat aktivitas enzim hyaluronidase (Park dan Ikegaki, 1998).

Sementara propolis ekstrak air dapat menghambat pertumbuhan lini sel yaitu McCoy, HeLa, SP2/0, HEp-2, dan BHK21 serta dapat menstimulasi pertumbuhan sel normal yaitu limfosit, ginjal, hati, dan limpa tikus (Najafi et al., 2007). Konsentrasi tertinggi senyawa fenolik diperoleh menggunakan pelarut dengan konsentrasi etanol lebih rendah dan konsentrasi propolis mentah lebih tinggi (Cottica et al., 2011).

Walaupun etanol merupakan pelarut paling umum, namun propolis ekstrak etanol memiliki beberapa kelemahan, seperti bau yang kuat, rasa yang tidak enak, dan konsentrasi etanol yang tinggi (Ghisalberti 1979; Burdock, 1998), sehingga studi tentang propolis ekstrak air terus meningkat. Nagai (2003) melaporkan bahwa propolis ekstrak air memiliki aktivitas antioksidan yang baik terkait dengan tingginya kandungan senyawa fenolik. Di sisi lain Demestre et al. (2008) melaporkan bahwa CAPE memiliki kelarutan yang rendah terhadap air, namun dapat dibuat lebih larut dengan penambahan lemak.

Berdasarkan latar belakang di atas, penulis ingin membuktikan bahwa terdapat perbedaan kadar CAPE pada propolis yang diekstrak menggunakan etanol dan propolis yang diekstrak menggunakan air.

## **B. Rumusan Masalah**

Apakah terdapat perbedaan kadar CAPE pada propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air?

### C. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui perbedaan kadar CAPE pada propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air.

### D. Manfaat Penelitian

#### 1. Aspek Teoritis

Memberikan sumbangan pikiran bagi ilmu pengetahuan kesehatan, terutama di bidang biokimia untuk mengetahui kadar CAPE lebih tinggi/optimal pada propolis ekstrak etanol atau propolis ekstrak air sehingga dapat digunakan untuk pengembangan penelitian selanjutnya.

#### 2. Aspek Aplikatif

- a. Memberikan informasi kepada klinisi tentang kadar CAPE yang sesuai standar dan lebih tinggi di antara propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air sehingga dapat digunakan untuk pengembangan penelitian selanjutnya.
- b. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang kadar CAPE pada propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air.

## BAB II

### LANDASAN TEORI

#### A. Tinjauan Pustaka

##### 1. Propolis

###### a. Definisi

Propolis adalah suatu zat resin yang dikumpulkan lebah madu dari tunas daun dan retakan kulit berbagai tumbuhan (Pietta et al., 2002). Lebah mencerna resin yang telah dikumpulkan, kemudian menambahkan enzim  $\beta$  glukosida dari kelenjar salivanya. Lebah menggunakannya sebagai bahan konstruksi untuk memperkuat dinding internal sarangnya dan menjaganya dari kondisi kelembaban dan kekeringan yang ekstrem (Bankova et al., 2000).

Propolis secara luas telah digunakan dalam pengobatan tradisional karena terbukti memiliki berbagai aktivitas biologis dan farmakologis. Selain itu di beberapa negara propolis digunakan sebagai suplemen makanan dan dipercaya dapat meningkatkan kesehatan dan mencegah penyakit (Bankova et al., 2000; Banksnot, 2001).

###### b. Kandungan Senyawa Kimia

Propolis terdiri dari 50% resin (terdiri dari flavonoid dan asam fenolik terkait), 30% lilin, 10% minyak esensial, 5% serbuk sari, dan 5% berbagai komponen organik (Pietta et al., 2002).

*commit to user*

Komposisi propolis berbeda-beda tergantung zona geografis, sumber tanaman, dan musim (Osman dan Taha, 2008; Saragih et al., 2006). Produksi rata-rata propolis tiap tahun (10-300 gram/sarang) bervariasi tergantung pada jenis lebah, iklim, jenis tumbuhan dan mekanisme pengumpulan yang digunakan (Krell, 1996; Lin et al., 1999; Kumazawa et al., 2003). Komposisi kandungan senyawa kimia rata-rata dari propolis berdasarkan penelitian Krell (1996) dan Durk (1997) disajikan dalam tabel berikut:

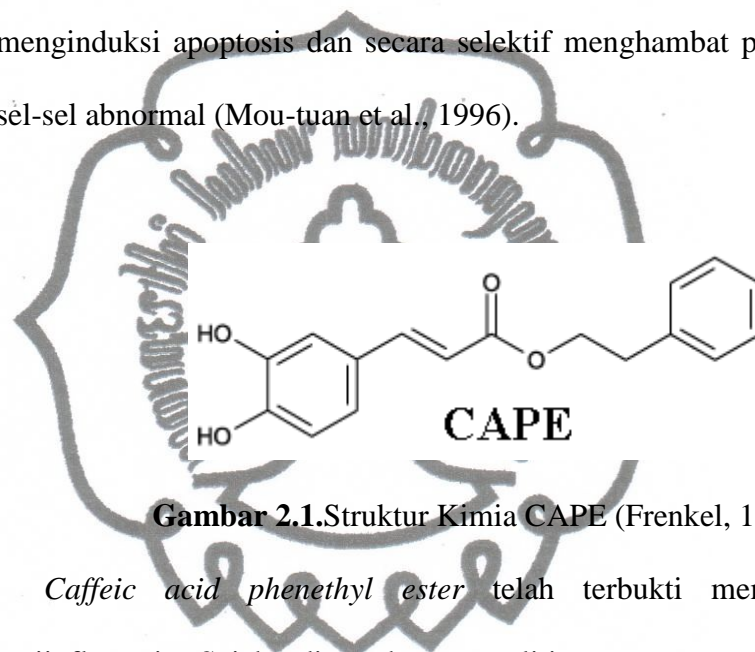
**Tabel 2.1.** Komposisi Senyawa Kimia Rata-Rata Propolis (Krell, 1996; Durk, 1997)

Komposisi	(%)	Kandungan Senyawa dan Karakteristik
Resin	45-55	Flavonoid, asam fenolik dan ester
Lilin	7,55-35	Lilin lebah, serat tumbuhan
Minyak esensial	5-10	Senyawa volatile
Asam Lemak	5	Kebanyakan dari lilin dan tergantung pada asal tumbuhan
Tepung sari	5	Protein tepung sari asam amino bebas dan prolin
Senyawa organik lain dan mineral	5	14 elemen sisa yang sebagian besar terdiri atas Fe dan Zn, dan elemen lain yaitu Au, Ag, Cs, Hg, K, keton, lakton, quinon, steroid, asam benzoat dan ester, vitamin: B1, B2, B3, B6

## 2. *Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)*

*Caffeic acid phenethyl ester* memiliki struktur mirip flavonoid. CAPE merupakan senyawa utama dalam propolis, sebuah zat yang memiliki spektrum luas yang telah digunakan sebagai obat rakyat. Mirip seperti flavonoid, CAPE telah menunjukkan beberapa aktivitas

biologi dan farmakologi seperti antiinflamasi (Borrelli et al., 2002; Hu et al., 2005), antikarsinogenik, imunomodulator, dan antioksidan (Cicala et al., 2003). Grunberger et al. (1998) mendeskripsikan CAPE sebagai senyawa yang bertanggung jawab terhadap sifat-sifat sitostatik propolis. CAPE juga berfungsi sebagai antitumor karena CAPE dapat menginduksi apoptosis dan secara selektif menghambat pertumbuhan sel-sel abnormal (Mou-tuan et al., 1996).



**Gambar 2.1.**Struktur Kimia CAPE (Frenkel, 1993)

*Caffeic acid phenethyl ester* telah terbukti memiliki sifat antiinflamasi. Sejak ditemukan penelitian tentang sel T yang memainkan peran penting pada onset beberapa penyakit inflamasi, Marquez et al. (2004) mengevaluasi aktivitas immunosupresif CAPE pada sel T manusia. Ditemukannya bahwa senyawa fenolik ini merupakan inhibitor poten pada sel T *receptor-mediated* aktivasi sel T. Selain itu, juga menemukan CAPE secara spesifik menghambat gen transkripsi interleukin (IL)-2 dan sintesis IL-2 dalam menstimulasi sel T. Molekul CAPE kecil dan lipofilik sehingga mudah masuk ke sel-sel dengan melintasi membran sel (Widjaja et al., 2008)

Berdasarkan penelitian Gonzales (2003) ada beberapa cara untuk menganalisis komposisi fenol dalam propolis dengan metode spektrofotometrik di antaranya metode *Folin-Ciocalteau*, metode *Prussian Blue*, dan metode *o-Phenanthroline*. Metode *Folin-Ciocalteau* merupakan metode yang paling stabil dari ketiga metode tersebut dan direkomendasikan untuk menganalisis propolis dengan konsentrasi fenol yang tinggi. Metode *Prussian Blue* merupakan metode yang cepat dan paling sensitif untuk total fenol namun metode ini tidak stabil. Sementara metode *o-Phenanthroline* merupakan metode yang dapat dipercaya karena cukup sensitif dan stabil.

Pengukuran dengan metode *Prussian Blue* dilakukan dengan cara menggunakan propolis ekstrak air maupun propolis ekstrak etanol sebanyak 5-400  $\mu\text{L}$  ditambah dengan reagen *Prussian Blue* yaitu 400  $\mu\text{L}$  0,0008 M  $\text{K}_3(\text{Fe})\text{CN}_6$  dan 400  $\mu\text{L}$  0.1 M  $\text{FeCl}_3$  dalam larutan 0.1 M HCl. Larutan yang sudah jadi kemudian ditambahkan dengan aquades hingga volume akhirnya menjadi 10 ml. Setelah 7 menit absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 700 nm, pengukuran dinyatakan selesai apabila test strip  $\text{FeCl}_3$  berubah warna menjadi hijau.

### 3. Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan akan larut. Sedangkan ekstrak adalah hasil ekstraksi dan merupakan sediaan pekat tumbuh-tumbuhan atau hewan

yang diperoleh dengan cara melepaskan zat aktif dari masing-masing bahan obat, menggunakan pelarut yang cocok kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diatur untuk ditetapkan standarnya. Potensi yang terkandung di dalam ekstrak mencapai 2 sampai 6 kali berat bahan mentah obat yang dipakai sebagai bahan pada permulaan pembuatan (Ansel, 1989).

Karena banyak bahan tumbuhan larut alkohol, maka air dan etanol lebih disukai penggunaannya sebagai cairan pengekstraksi. Namun, air memiliki beberapa kelemahan, di antaranya larutan dalam air mudah mengalami kontaminasi mikrobial. Sedangkan dengan menggunakan etanol (70% volume) sebagai pelarut dapat dihasilkan bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengotornya hanya dalam skala kecil turut dalam cairan pengekstraksi. Etanol (70% volume) dapat memberikan perlindungan terhadap kontaminasi mikroba dan membantu mencegah pemisahan bahan yang diekstraksi bila didiamkan. Etanol juga tidak menyebabkan pembengkakan membran sel sehingga memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut (Voigt, 1994).

### **Propolis Ekstrak Etanol dan Propolis Ekstrak Air**

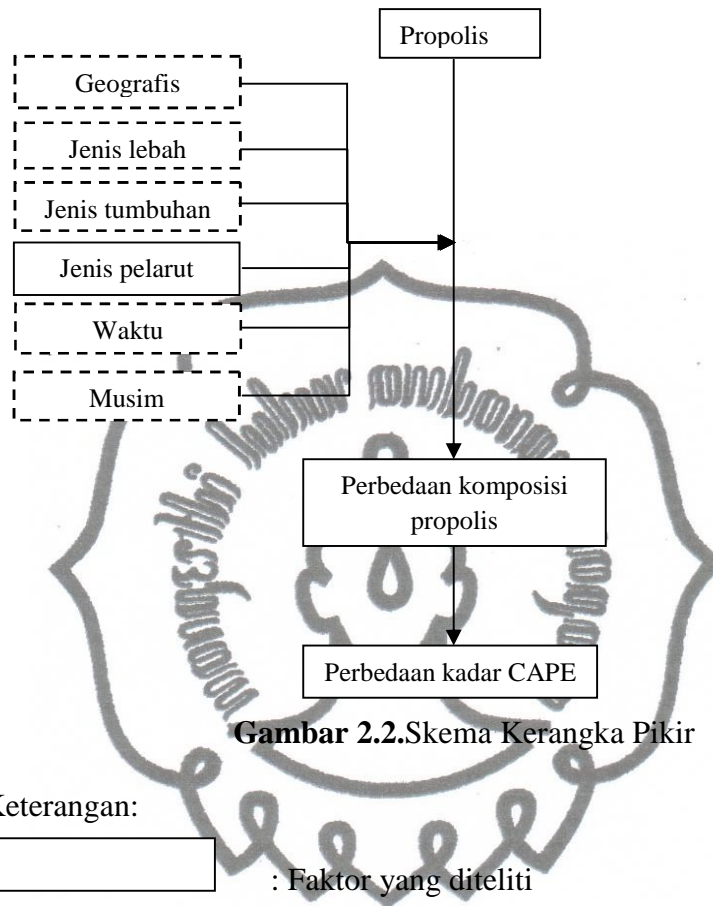
Pada ekstrak tumbuhan dengan konsentrasi etanol yang berbeda-beda jika bahan pengekstraksinya diuapkan sebagian atau seluruhnya, maka diperoleh ekstrak, yang dikelompokkan menurut sifat-sifatnya menjadi:

*commit to user*

- a) Ekstrak encer merupakan ekstrak yang memiliki konsistensi seperti madu dan dapat dituang. Saat ini sudah tidak terpakai lagi.
- b) Ekstrak kental merupakan sediaan yang liat pada kondisi dingin dan tidak dapat dituang. Kandungan airnya berjumlah sampai 30% sehingga menyebabkan suatu instabilitas sediaan obat akibat serbuan bakteri.
- c) Ekstrak kering merupakan sediaan yang memiliki konsistensi kering dan mudah digosokkan, kandungan airnya tidak lebih dari 5%.
- d) Ekstrak cair merupakan ekstrak yang dibuat sedemikian hingga 1 bagian obat sesuai dengan 2 bagian ekstrak cair. Ekstrak cair dan ekstrak kering adalah komponen yang paling banyak tersedia (Voigt, 1994).

Propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air diperoleh dengan cara Gonzalez (2003) dengan modifikasi. Ekstrak dibuat dengan mengambil 0,1 gr propolis kering dan ditambah dengan 30 ml air. Kemudian dimaserasi selama 12 jam, selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam *shaker* dan disentrifugasi dengan kecepatan 50 rpm selama 30 menit pada suhu 30°C. Supernatan yang didapat kemudian difiltrasi 5 jam kemudian. Prosedur yang sama kemudian diulang sebanyak 5 kali.

## B. Kerangka Pemikiran

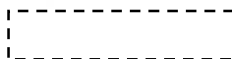


**Gambar 2.2.**Skema Kerangka Pikir

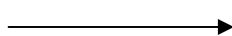
Keterangan:



: Faktor yang diteliti



: Faktor yang tidak diteliti



: Mempengaruhi

## C. Hipotesis

Terdapat perbedaan kadar CAPE pada propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air. Kadar CAPE propolis ekstrak etanol lebih tinggi daripada propolis ekstrak air

### **BAB III**

#### **METODE PENELITIAN**

##### **A. Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni.

##### **B. Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

##### **C. Subjek Penelitian**

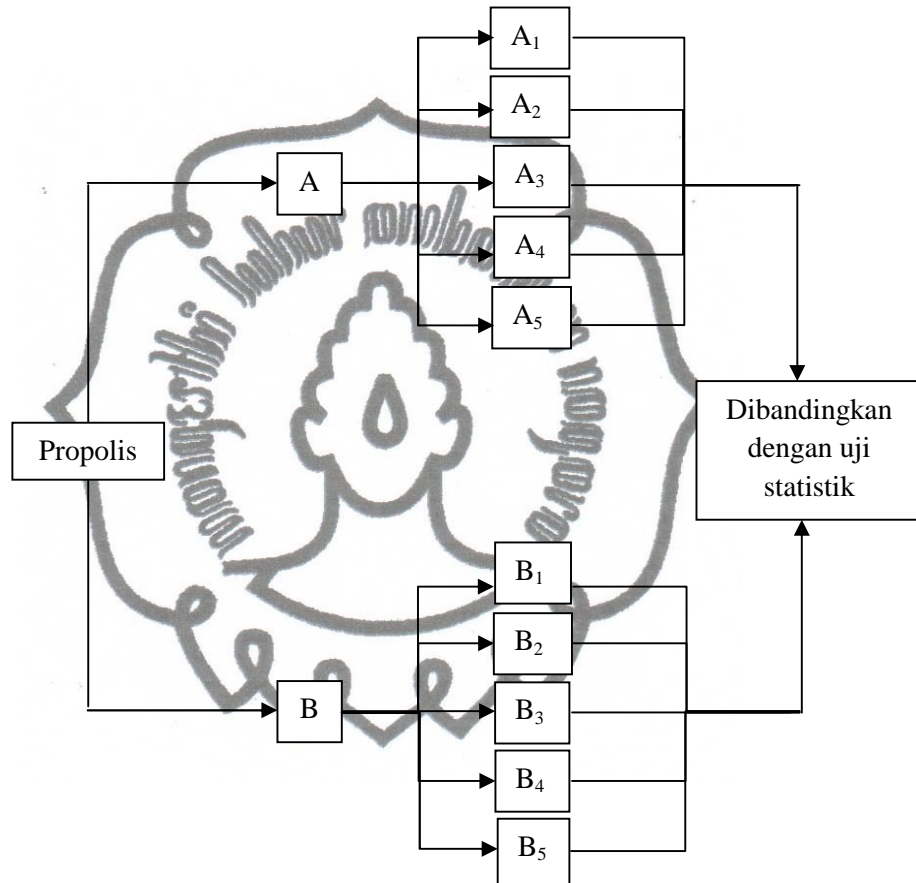
Subjek penelitian berupa propolis mentah yang berasal dari peternakan lebah di daerah Gejen RT 3 RW 2 Kerjo Karanganyar.

##### **D. Teknik Sampling**

Teknik sampling yang dilakukan adalah *purposive sampling*. Pemilihan subjek berdasarkan atas sifat tertentu yang berkaitan dengan karakteristik populasi. Karakteristik populasi harus sudah diketahui terlebih dahulu dari penelitian-penelitian sebelumnya (Taufiqqurohman, 2009).

### E. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *the post test only group design*.



**Gambar 3.1.**Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

A : Propolis ekstrak etanol  
*commit to user*

B : Propolis ekstrak air

A<sub>1</sub> : Pengukuran kadar CAPE pada kelompok propolis ekstrak etanol 1 menggunakan spektrofotometer dengan metode *Prussian Blue*

A<sub>2</sub> : Pengukuran kadar CAPE pada kelompok propolis ekstrak etanol 2 menggunakan spektrofotometer dengan metode *Prussian Blue*

A<sub>3</sub> : Pengukuran kadar CAPE pada kelompok propolis ekstrak etanol 3 menggunakan spektrofotometer dengan metode *Prussian Blue*

A<sub>4</sub> : Pengukuran kadar CAPE pada kelompok propolis ekstrak etanol 4 menggunakan spektrofotometer dengan metode *Prussian Blue*

A<sub>5</sub> : Pengukuran kadar CAPE pada kelompok propolis ekstrak etanol 5 menggunakan spektrofotometer dengan metode *Prussian Blue*

B<sub>1</sub> : Pengukuran kadar CAPE pada kelompok propolis ekstrak air 1 menggunakan spektrofotometer dengan metode *Prussian Blue*

B<sub>2</sub> : Pengukuran kadar CAPE pada kelompok propolis ekstrak air 2 menggunakan spektrofotometer dengan metode *Prussian Blue*

B<sub>3</sub> : Pengukuran kadar CAPE pada kelompok propolis ekstrak air 3 menggunakan spektrofotometer dengan metode *Prussian Blue*

B<sub>4</sub> : Pengukuran kadar CAPE pada kelompok propolis ekstrak air 4 menggunakan spektrofotometer dengan metode *Prussian Blue*

B<sub>5</sub> : Pengukuran kadar CAPE pada kelompok propolis ekstrak air 5 menggunakan spektrofotometer dengan metode *Prussian Blue*

#### **F. Identifikasi Variabel Penelitian**

1. Variabel bebas: Propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air
2. Variabel terikat: kadar CAPE

#### **G. Definisi Operasional Variabel**

1. Propolis Ekstrak Etanol

Propolis ekstrak etanol adalah ekstrak yang diperoleh dengan cara mengekstrak propolis mentah dari peternakan lebah di daerah Gejen RT 3 RW 2 Kerjo Karanganyar dengan menggunakan etanol sebagai pelarutnya. Skala ukuran variabel ini adalah nominal.

2. Propolis Ekstrak Air

Propolis ekstrak etanol adalah ekstrak yang diperoleh dengan cara mengekstrak propolis mentah dari peternakan lebah di daerah Gejen RT 3 RW 2 Kerjo Karanganyar menggunakan air sebagai pelarutnya. *commit to user* Skala ukuran variabel ini adalah nominal.

### 3. Kadar CAPE

Kadar CAPE adalah kadar yang ditentukan menggunakan spektrofotometer dengan metode *Prussian Blue*. Skala ukuran variabel ini adalah rasio.

## H. Instrumentasi Penelitian

### 1. Alat

a) labu takar 10 mL, 100 mL, 250 mL; b) erlenmeyer tutup 100 mL, 250 mL; c) gelas beker 250 mL; d) pipet tetes; e) pipet mikro 0-10, 10-100, 100-1000  $\mu\text{L}$ ; f) botol timbang; g) satu set spektrofotometer; h) kertas saring; i) kain lap; j) sabun cuci; k) sikat tabung.

### 2. Bahan

a) CAPE ( $1 \cdot 10^{-3}$  s.d  $2,98 \cdot 10^{-3} \text{M}$ ); b) asam asetat; c) etanol 80%; d) *aquabidest*; e) HCl 0,1 M; f.  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  0,0008M/0,1M HCl; g)  $\text{FeCl}_3$  0,1M/0,1M HCl; h) propolis mentah.

## I. Cara Kerja

### 1. Persiapan Percobaan

Pembuatan propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. Propolis ekstrak dibuat dengan cara Gonzalez (2003) dengan modifikasi. Ekstrak dibuat dengan mengambil 0,1 gr propolis kering dan ditambah dengan 30

ml air. Kemudian dimaserasi selama 12 jam, selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam *shaker* dan disentrifugasi dengan kecepatan 50 rpm selama 30 menit pada suhu 30°C. Supernatan yang didapat kemudian difiltrasi 5 jam kemudian. Prosedur yang sama kemudian diulang sebanyak 5 kali. Modifikasi yang dilakukan adalah dengan memperpanjang lama perendaman menjadi 24 jam dan tidak menggunakan *shaker* pada proses pengadukan.

## 2. Pelaksanaan Percobaan dan Pengukuran Hasil

Pengukuran kadar CAPE propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta dengan menggunakan spektrofotometer dengan metode *Prussian Blue* dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- a) Menentukan standar CAPE (284,31 g/mol) dengan membagi CAPE standar menjadi enam kelompok ukuran yaitu: 0, 4, 8, 12, 16, 20  $\mu\text{L}$ .
- b) Masing-masing kelompok ukuran CAPE standar ditambahkan 400  $\mu\text{L}$   $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  0,0008M/0,1M HCl dan 400  $\mu\text{L}$   $\text{FeCl}_3$  0,1M/0,1M HCl setelah itu dikocok dan ditunggu 7 menit kemudian diamati absorbansi warna pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 700 nm.
- c) Mencatat nilai absorbansi kemudian memindahkan data pada grafik CAPE standar dimana sumbu x menunjukkan besarnya

ukuran nilai CAPE standar dan sumbu y menunjukkan besarnya nilai absorbansi.

- d) Membagi sampel propolis menjadi dua kelompok yaitu: propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air
- e) Masing-masing propolis diambil 10  $\mu\text{L}$  kemudian diencerkan dengan etanol 80% setelah itu ditambahkan 400  $\mu\text{L}$   $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  0,0008M/0,1M HCl dan 400  $\mu\text{L}$   $\text{FeCl}_3$  0,1M/0,1M HCl hingga volumenya menjadi 10 ml lalu dikocok, dan ditunggu 7 menit kemudian mengamati absorbansi warna pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 700 nm.
- f) Mencatat nilai absorbansi kemudian memindahkan data ke dalam grafik CAPE standar untuk menentukan besar nilai CAPE yang terdapat dalam sampel propolis.
- g) Mengulangi langkah 5 dan 6 sebanyak tiga kali untuk tiap sampel propolis.
- h) Menghitung nilai rata-rata kadar CAPE tiap sampel propolis.
- i) Membandingkan kadar CAPE antara propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air.

## J. Teknik Analisis Data Statistik

Data hasil penelitian dianalisis dengan uji t tidak berpasangan menggunakan program SPSS 17,0 *for windows* untuk mengetahui adanya perbedaan rerata kadar CAPE pada propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air (Dahlan, 2007). *commit to user*

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN**

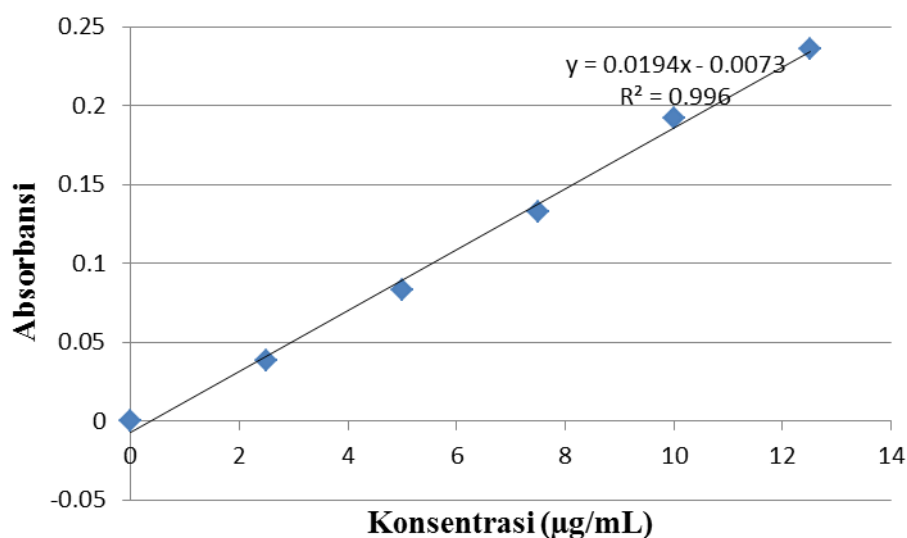
Penentuan kadar CAPE pada sampel digunakan CAPE standar dalam pelarut etanol 80% dengan konsentrasi 0; 2,5; 5; 7,5; 10; dan 12,5  $\mu\text{g/mL}$  dan dalam pelarut air dengan konsentrasi 0; 2,5; 5; 10; 20; dan 30  $\mu\text{g/mL}$ . Pada saat CAPE standar direaksikan dengan reagen *Prussian-blue* dihasilkan larutan berwarna hijau. Semakin tinggi konsentrasi CAPE standar maka warna larutan yang dihasilkan semakin pekat. Hal ini menunjukkan bahwa CAPE standar memiliki kemampuan mereduksi.

CAPE standar yang telah direaksikan dengan reagen *Prussian-blue* kemudian diamati nilai absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 700 nm. Ketika direaksikan dengan reagen *Prussian-blue* warna yang dihasilkan adalah warna hijau. Warna yang dihasilkan oleh seluruh sampel terlalu pekat sehingga perlu dilakukan pengenceran agar dapat dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis. Berikut ini merupakan hasil pengukuran absorbansi larutan CAPE standar yang menggunakan pelarut etanol 80%:

**Tabel 4.1.** Nilai Absorbansi CAPE Standar dengan Pelarut Etanol 80%

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbansi (A)
12.5	0.236
10.0	0.192
7.5	0.133
5.0	0.083
2.5	0.038
0.0	0.000

Berdasarkan hasil pengukuran CAPE standar di atas, dapat dibuat kurva kalibrasi antara absorbansi (A) dengan konsentrasi (C). Pembuatan kurva kalibrasi ini bertujuan untuk membantu menentukan kadar CAPE yang terdapat dalam sampel propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air dengan menggunakan persamaan regresi dari kurva kalibrasi.

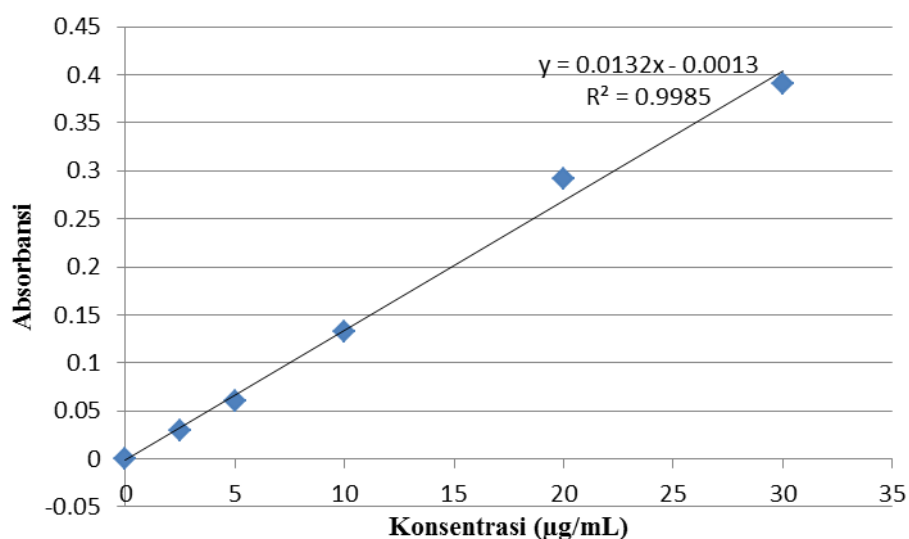
**Gambar 4.1.** Kurva Kalibrasi CAPE Standar dengan Pelarut Etanol 80%

Sedangkan hasil pengukuran absorbansi larutan CAPE standar menggunakan pelarut air adalah sebagai berikut:

**Tabel 4.2.** Nilai Absorbansi CAPE Standar dengan Pelarut Air

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbansi (A)
30.00	0.390
20.00	0.291
10.00	0.133
5.00	0.060
2.50	0.029
0.00	0.000

Berdasarkan hasil pengukuran nilai absorbansi di atas didapatkan kurva kalibrasi sebagai berikut:

**Gambar 4.2.** Kurva Kalibrasi CAPE Standar dengan Pelarut Air

Gambar 4.1 dan 4.2 memperlihatkan bahwa nilai absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi yang mengikuti persamaan regresi linier. Dari pengukuran kadar CAPE standar dengan pelarut etanol didapatkan kurva kalibrasi dengan persamaan regresi  $y = 0,0194x - 0,0073$  dan harga koefisien korelasi ( $r$ ) adalah 0,996. Sedangkan dari pengukuran kadar CAPE standar dengan pelarut air

didapatkan kurva kalibrasi dengan persamaan regresi  $y = 0,0132x - 0,0013$  dan harga koefisien korelasi ( $r$ ) adalah 0,9987. Nilai ( $r$ ) yang mendekati 1 tersebut membuktikan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier. Persamaan ini digunakan sebagai standar untuk pengukuran kadar CAPE pada propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air.

Berdasarkan persamaan regresi yang didapat dari pengukuran nilai absorbansi CAPE standar pada pelarut etanol 80% maka dapat ditentukan konsentrasi CAPE sebagai berikut:

**Tabel 4.3.** Konsentrasi CAPE pada Propolis Ekstrak Etanol 80%

Absorbansi (A)	Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )
0,214	11,42
0,223	11,85
0,230	12,24
0,244	12,93
0,243	12,90

Sedangkan konsentrasi CAPE dengan pelarut air didapatkan hasil sebagai berikut:

**Tabel 4.4.** Konsentrasi CAPE pada Propolis Ekstrak Air

Absorbansi (A)	Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )
0,072	5,52
0,080	6,13
0,068	5,25
0,071	5,48
0,071	5,48

Perbandingan konsentrasi CAPE pada propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air adalah sebagai berikut:

**Tabel 4.5.** Perbandingan Konsentrasi CAPE pada Propolis Ekstrak Etanol dan Propolis Ekstrak Air

Etanol ( $\mu\text{g/mL}$ )	Air ( $\mu\text{g/mL}$ )
11,42	5,52
11,85	6,13
12,24	5,25
12,93	5,48
12,90	5,48

Konsentrasi rata-rata CAPE pada propolis ekstrak etanol berdasarkan data-data di atas adalah 12,268  $\mu\text{g/mL}$  dan konsentrasi rata-rata CAPE pada propolis ekstrak air adalah 5,564  $\mu\text{g/mL}$ . Dari hasil tersebut terlihat bahwa konsentrasi CAPE pada propolis ekstrak etanol lebih tinggi daripada propolis ekstrak air. Selanjutnya, data-data tersebut diuji menggunakan uji t tidak berpasangan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rerata konsentrasi CAPE yang bermakna antara dua kelompok data tersebut.

Langkah pertama analisis data penelitian dilakukan uji normalitas pada data yang diperoleh untuk mengetahui apakah sebarannya normal atau tidak. Sebaran data yang normal merupakan syarat mutlak uji t tidak berpasangan. Normalitas sebaran data diketahui dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk karena jumlah sampel kurang dari 50. Pada uji normalitas Shapiro-Wilk didapatkan nilai  $p=0,481$  untuk ekstrak etanol dan  $p=0,101$  untuk ekstrak air. Karena nilai  $p>0,05$ , dapat disimpulkan bahwa distribusi atau sebaran data normal. Karena syarat distribusi atau sebaran data terpenuhi, maka uji hipotesis yang dipakai adalah uji t tidak berpasangan.

Langkah berikutnya adalah menguji varians data. Pada kotak *Levene's test* didapatkan nilai *significancy* = 0,125. Karena nilai  $p > 0,05$  maka varians data kedua kelompok sama. Namun varian data ini bukan merupakan syarat mutlak untuk dilakukannya uji t tidak berpasangan. Kemudian dilihat perbedaan rerata (*mean difference*). Perbedaan rerata didapatkan hasil 6,704. Selanjutnya dilihat nilai IK 95%. Nilai IK 95% adalah antara 5,89441 dan 7,51359. Karena nilai  $p > 0,05$  maka dapat disimpulkan tidak terdapat perbedaan rerata konsentrasi CAPE yang bermakna antara propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air.

## BAB V

### PEMBAHASAN

Propolis adalah produk alami yang berasal dari resin tumbuhan yang dikumpulkan oleh lebah madu. Komposisi propolis terutama tergantung pada tumbuh-tumbuhan dari daerah mana propolis dikumpulkan, waktu dikumpulkan, dan secara sekunder tergantung pada pelarut yang digunakan untuk ekstraksi. Propolis tidak dapat digunakan sebagai bahan mentah dan harus dimurnikan dengan ekstraksi menggunakan pelarut (Pietta et al., 2002). Cunha dalam Sforcin (2011) menyatakan bahwa pelarut yang berbeda akan mengekstrak komponen yang berbeda serta mempengaruhi aktivitasnya. Kualitas ekstrak dipengaruhi oleh berbagai hal diantaranya bahan yang diekstrak, pelarut yang digunakan dan prosedur ekstraksi.

Hal-hal yang mempengaruhi kuantitas ekstraksi di antaranya tipe ekstraksi, waktu ekstraksi, temperatur, pelarut alami, konsentrasi pelarut, serta polaritas. Dalam proses ekstraksi, pelarut berdifusi ke dalam material padat dan melarutkan komponen yang sama polaritasnya. (Parshant et al., 2011). Propolis biasanya diekstrak dengan menggunakan air dan berbagai konsentrasi etanol sebagai pelarut (Park dan Ikegaki, 1998).

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rerata kadar CAPE propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air. Di sini faktor yang diteliti adalah

*commit to user*

jenis pelarut yaitu etanol 80% dan air. Etanol merupakan pelarut yang termasuk golongan alkohol yang memiliki sifat melarutkan lebih banyak polifenol jika dibandingkan dengan air karena alkohol lebih efektif dalam mendegradasi dinding sel yang memiliki sifat nonpolar sehingga polifenol bisa lepas. Sedangkan air merupakan pelarut universal yang biasanya digunakan untuk mengekstraksi zat-zat yang memiliki aktivitas antimikroba. Pada pelarut air terdapat enzim *polyphenol oksidase* yang dapat menyebabkan polifenol terdegradasi. Enzim tersebut tidak aktif dalam etanol maupun metanol.

Hasil penelitian yang didapatkan pada tabel 4.5 menunjukkan bahwa konsentrasi CAPE pada propolis ekstrak etanol lebih tinggi daripada propolis ekstrak air. Hal ini sesuai dengan pernyataan Demestre et al. (2008) bahwa CAPE memiliki kelarutan yang rendah terhadap air.

Hasil analisis data penelitian menggunakan uji t tidak berpasangan didapatkan  $p=0,125$  ( $p>0.05$ ), nilai  $p$  yang lebih besar dari 0,05 menunjukkan bahwa perbedaan rerata konsentrasi CAPE pada propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air tidak signifikan.

Kelemahan penelitian ini adalah penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi sederhana yang berakibat sedikitnya bahan aktif yang terekstrak dari propolis. Selain itu, penelitian ini tidak menggunakan metode isolasi spesifik untuk mengisolasi CAPE.

Penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi masyarakat yang ingin mengetahui perbedaan kadar CAPE antara propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air.



## BAB VI

### SIMPULAN DAN SARAN

#### A. Simpulan

Terdapat perbedaan konsentrasi CAPE pada propolis ekstrak etanol dan propolis ekstrak air. Namun perbedaan antara keduanya tidak signifikan.

#### B. Saran

1. Sebaiknya dilakukan penelitian lanjutan dengan metode ekstraksi yang berbeda untuk meneliti pengaruh metode ekstraksi terhadap komposisi propolis.
2. Sebaiknya dilakukan isolasi CAPE terlebih dahulu menggunakan metode isolasi yang spesifik untuk CAPE.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Jakarta: UI Press, pp: 605-19.
- Bankova V, Boudourova KG, Popov S, Sforcin JM, Funari SRC. 1998. Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis. *Apidologie*, 29: 361-7.
- Bankova V, Castro SL, Marcucci MC. 2000. Propolis: Recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31: 3-15.
- Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S. 2001. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytotherapy Research*, 15: 561-71.
- Borrelli F, Maffia P, Pinto L, Ianaro A, Russo A, Capasso F, Ialenti A. 2002. Phytochemical compound involved in the antiinflammatory effect of propolis extract. *Fittoterapia*, 73 (1): S53-S63.
- Burdock GA. 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (Propolis). *Food Chemichal Toxicology*, 36: 347-63.
- Cottica SM, Sawaya ACHF, Eberlin MN, Franco S, Zeoulae LM, Visentainera JV. 2011. Antioxidant activity and composition of propolis obtained by different methods of extraction. *J Braz Chem Soc*, 22: 927-33.
- Cicalaa C, Morelloa S, Iorioa C, Capassoa R, Borrellia F, Mascolo N. 2003. Vascular effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on isolated rat thoracic aorta. *Life Sciences*, 73: 73-80.
- Dahlan MS. 2007. *Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan: Deskriptif, Bivariat, dan Multivariat, Dilengkapi "Aplikasi dengan Menggunakan SPSS"*. Seri 1. Jakarta: Salemba Medika.
- Demestre M, Messerli SM, Celli N, Shalhossini M, Kluwe L, Mautner V, Maruta H. 2008. CAPE (Caffeic Acid Phenethyl Ester)-based Propolis Extract (Bio 30) Suppresses the Growth of Human Neurofibromatosis (NF) Tumor Xenografts in Mice. *Phytother Res*.

- Durk E. 1997. The Ability of bee products to modulate human immuno system. *Eight International Symposium on trends in Biomedicine in Finland: allergy, oxidants and antioxidants, and human health*.
- Frenkel K, Wei H, Bhimani R. 1993. Inhibition of tumor promoter-mediated processes in mouse skin and bovine lens by caffeic acid phenethyl ester. *Cancer Res*, 53: 1255-61.
- Ghisalberti EL. 1979. Propolis: A review. *Bee World*, 60:59-80.
- Gonzalez M, Guzman B, Rudyk R, Romano E, Molina MAA. 2003. Spectrophotometric determination of phenolic compounds in propolis. *Lat Am J Pharm.*, 22 (3): 243-8.
- Hu F, Hepburn HR, Li Y, Chen M, Radloff SE, Daya S. 2005. Effect of ethanol and water extract of propolis (bee glue) on acute inflammatory animal model. *Journal of ethnopharmacology*, 100: 276-83.
- Khayyal MT, el-Ghazaly MA, el-Khatib AS. 1993. Mechanisms involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Drugs Exp Clin Res*, 9: 197-203.
- Krell R. 1996. Value-added products from beekeeping. *FAO Agricultural Services Bulletin* No. 124.
- Kumazawa S., Yoneda M., Shibata I., Kanaeda J., Hamasaka T., Nakayama T. 2003. Direct evidence for the plant origin of Brazilian propolis by the observation of honeybee behavior and phytochemical analysis. *Chem Pharm Bull.*, 51(6): 740-2.
- Lin S.C., Chung C.Y., Chiang C.L., Hsu S.H. 1999. The influence of propolis ethanol extract on liver microsomal enzymes and glutathione after chronic alcohol administration. *Am J Chin Med*, 27(1): 83-94.
- Lotfy M. 2006. Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pac J Cancer Prev.*, 7: 22-31.
- Marcucci MC. 1995. Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26: 83-99.
- Marquez N, Sancho R, Macho A, Calzado MA, Fiebich BL, Munoz E. 2004. Caffeic acid phenethyl ester inhibits T-cell activation by targeting both nuclear factor of activated T-cells and NF-kappa

- B transcription factors. *J Pharmacol Exp Ther.*, 308 (3): 993-1001.
- Mishima S, Yoshida C, Akino S, Sakamoto T. 2005. Antihypertensive effects of brazilian propolis: Identification of caffeoylquinic acids as constituents involved in the hypotension in spontaneously hypertensive rats. *Biol Pharm Bull.*, 28 (10) 1909-14.
- Mou-tuan H, Wei M, Patricia Y, Jian-guo X, Jingkang H, Krystyna F, Dezider G, Allan HC. 1996. Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion in mouse skin and the synthesis of DNA, RNA and protein in HeLa cells. *Carcinogenesis*, 17:761-5.
- Nagaoka T, Banskota AH, Tezuka Y, Midorikaka K, Matsushige K, Kadota S. 2003. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) analogues: Potent nitric oxide inhibitors from the Netherlands propolis. *Biol Pharm Bull.*, 26 (4): 487-91.
- Najafi MF, Vahedy F, Seyyedini M, Jomehzadeh HR, Bozary K. 2007. Effect of the water extracts of propolis on stimulation and inhibition of different cells. *Cytotechnology*, 54: 49-56.
- Park YK, Ikegaki M. 1998. Preparation water and ethanolic extract of propolis and evaluation of preparations. *Bioschi Biotechnol Biochem.*, 62 (11): 2230-2.
- Pietta PG, Gardana C, Pietta AM. 2002. Analytical methods for quality control of propolis. *Fitoterapia*, 73(1): 7-20.
- Rossi A, Longo R, Russoc A, Borrellia F, Sautebina L. 2002. The role of the phenethyl ester of caffeic acid (CAPE) in the inhibition of rat lung cyclooxygenase activity by propolis. *Fitoterapia*, 73(1): 30-7.
- Saragih HTS, Mangkuwidjojo S, Santoso EB. 2006. Pengaruh ekstrak etanol propolis (EEP) terhadap hepatotoksisitas dan stres oksidasi akibat pemberian 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-P-Dioksin (TCDD) secara kronis pada tikus albino (*Sprague Dawley*). *Agrosains*, 19 (2): 109-19.
- Sforcin J M, Bankova V. 2011. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs?. *Journal Ethnopharmacology*, 133 (2011): 253-60. *commit to user*

- Osman MF dan Taha EA. 2008. Antioxidant activity of water extract of propolis from different regions in Kafr El-Sheikh Governorate. *Special Volume Conferenc*, pp : 88-9.
- Ozen S, Akyol O, Iraz M, Sogut S, Ozugurlu F, Ozyurt H, Odaci E, Yildirim Z. 2004. Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Appl Toxicol*, 24(1):27-35.
- Prashant T, Bimlesh K, mandeep K, Gupreet K, Harleen K. 2011. Phytochemical screening and ekstraktion: A review. *International Pharmaceutica Scinecia*. 1 (1): 98-106.
- Taufiqurohman MA. 2009. *Pengantar Metodologi Penelitian untuk Ilmu Kesehatan*. Safei I., Hastuti S., Saddhono K. (eds). Surakarta: UNS Press, pp: 58, 101-2.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta : Penerbit UGM Press, pp : 561-4.
- Widjaja A, Yeh T, Ju Y. 2008. Enzymatic synthesis of caffeic acid phenethyl ester. *Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers*, 39: 413-18.