

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang memberikan manfaat jika diberikan dalam jumlah yang cukup (FAO & WHO, 2006). Untuk memaksimalkan manfaat kesehatan yang ditawarkan oleh probiotik, jumlah sel yang layak harus mencapai setidaknya $6 \log 10$ CFU/g saat dikonsumsi. Dengan membiasakan mengonsumsi mikroorganisme probiotik dapat berpengaruh terhadap regulasi fungsi usus, peningkatan pencernaan laktosa, penghambatan patogen dan stimulasi sistem kekebalan tubuh (Amorim *et al.*, 2018; Wai *et al.*, 2022).

Karakteristik yang harus dimiliki probiotik yakni mempunyai kemampuan toleransi stress terhadap saluran pencernaan manusia. Probiotik harus dapat menahan pH rendah (pH 2-5), dan cairan lambung, dapat menahan kondisi usus yang mengandung pankreatin dan garam empedu (konsentrasi 0,3-2% (w/v)) (de Melo Pereira *et al.*, 2018; Dahiya dan Nigam, 2022). Mikroorganisme probiotik juga harus memiliki kemampuan untuk tumbuh pada suhu 37°C , memiliki kemampuan autoagregasi sel dan hidrofobik yang tinggi (Gut *et al.*, 2018; Staniszewski dan Monika, 2021).

Untuk dapat dikatakan sebagai probiotik, mikroba yang digunakan dalam pengolahan makanan atau suplemen harus menunjukkan manfaat pada inangnya. Beberapa manfaat yang diberikan yakni harus dapat membantu sistem kekebalan tubuh seperti mengidentifikasi mikroorganisme patogen (mikroba penyakit) dan mikroorganisme baik (yang membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh), sehingga probiotik dapat secara signifikan mengurangi penyebaran patogen dengan cara bersaing untuk mendapatkan reseptor sel inang atau mengeluarkan antioksidan (Khaneghah *et al.*, 2020; Dahiya dan Nigam, 2022).

Mikroba yang berpotensi sebagai agen probiotik adalah khamir, khamir yang telah diakui, dicirikan, telah lama digunakan sebagai agen probiotik adalah *Saccharomyces cerevisiae* var. *Boulardii* (Czerucka *et al.*, 2007; Amorim *et al.*, 2018; Di Cagno *et al.*, 2020). Khamir sendiri memiliki keunggulan tertentu jika dibandingkan dengan bakteri, seperti resisten terhadap antibiotik, dapat tumbuh di

lingkungan pH rendah bahkan hingga pH 1,5 (Czerucka *et al.*, 2007; Daniali *et al.*, 2020; Alvarez *et al.*, 2022).

Khamir banyak yang bergantung pada sumber gula, begitu juga dengan serangga yang mengonsumsi gula juga bergantung pada sumber gula. Nektar pada bunga merupakan salah satu sumber gula yang dapat memberikan sinyal gula berupa sinyal bau dan visual, hal ini membuat serangga mengonsumsi gula menghampiri sinyal tersebut. Salah satu serangga mengonsumsi makanan yang terdapat sumber gula adalah lebah madu, ketika lebah madu mengangkat makanannya maka khamir yang juga bergantung pada lingkungan sumber gula juga akan terangkut dan mendapat tumpangan gratis (*phoresy*) (Madden *et al.*, 2018).

Adanya khamir pada lebah madu dapat dikatakan sebagai asosiasi, dimana lebah madu mendapat nutrisi dari khamir yaitu dalam hal meningkatkan nilai nutrisi dan sifat antimikroba madu, sedangkan khamir yang membutuhkan vektor untuk berpindah di antara lingkungan yang berbeda untuk bertahan hidup akan mendapat keuntungan ini dari lebah madu sebagai vektor perpindahannya. Lingkungan usus (saluran pencernaan) yang terdapat pada serangga seperti lebah madu juga dapat mewakili lingkungan yang mendukung untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup khamir seperti menyediakan sumber nutrisi yang teratur (Stefanini, 2018).

Salah satu jenis lebah madu yang ditemukan di Indonesia adalah *Apis mellifera*, karena dapat digunakan dalam alat penyerbukan untuk kepentingan pertanian dan mudah untuk dibudidayakan. *Apis mellifera* mudah dibudidayakan karena lebah madu jenis ini memiliki toleransi yang besar terhadap suhu dan kelembaban (Jasmi, 2013; Li *et al.*, 2019).

Seratus enam strain khamir diisolasi dari tiga sampel lebah madu, dengan lebih dari separuh isolat menunjukkan tingkat kelangsungan hidup yang dapat diterima dalam lingkungan pemulihan gastrointestinal, pH berkisar antara 2,0–2,5, garam empedu 0,3% (w/v), dan suhu 37°C (Mustar dan Ibrahim, 2022). Stefanini (2018) menyatakan beberapa khamir telah diisolasi dari usus lebah yaitu *Candida blankie*, *C. incommunis*, *C. demi*, *C. etchellsii*, *C. magnoliae*, *C. glabrata*, *C. ishiwadae*, *C. membranifaciens*, *C. parapsilosis*, *C. versatilis*, *Dekkera anomala*, *Dekkera bruxellensis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Komagataella pastoris*, *Lindnera saturnus*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Ogataea polymorpha*, *Debaryomyces*

maramus, *Debaryomyces robertsiae*, *Pichia kudriavzevii*, *Pichia terricola*, dan *S. cerevisiae*. Lalu pada penelitian Khalafalla *et al.* (2019), 3 isolat khamir juga diperoleh dari usus lebah *Apis mellifera* yang menunjukkan potensi tinggi untuk bertindak sebagai probiotik. Khamir-khamir tersebut diidentifikasi dengan cara molekuler sebagai *Wickerhamomyces anomalus*, *Lachancea thermotolerans*, dan *Zygosaccharomyces mellis*.

Identifikasi khamir berdasarkan molekuler asal lebah madu juga perlu dilakukan untuk mendapatkan nama jenis khamir. Identifikasi ini penting untuk dilakukan karena memiliki akurasi tinggi. Metode identifikasi khamir secara molekuler yang umum digunakan untuk mengetahui data spesies khamir adalah metode sekuensing DNA (Kurtzman dan Fell, 2006). Identifikasi khamir dapat ditentukan berdasarkan data sekuens dari daerah D1/D2 pada ribosomal DNA dan khamir memiliki daerah D1/D2 dari ribosomal DNA. Daerah D1/D2 rDNA merupakan daerah divergen dimana variasi fragmen basa nitrogen dalam daerah ini dapat dijadikan sebagai barcode pada berbagai spesies (Sonnenberg *et al.*, 2007). Limtong *et al.* (2014) menyatakan D1/D2 merupakan daerah *coding* pada bagian 5'26S LSU rDNA yang memiliki panjang basa 600 *basepair*.

Informasi mengenai keberadaan dan kemampuan khamir asal saluran pencernaan lebah madu (*Apis mellifera*) terutama potensinya sebagai agen probiotik berupa khamir masih sangat terbatas, sehingga perlu dilaksanakan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui keberagaman dan potensi probiotik khamir pada lebah madu (*Apis mellifera*).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi dan melihat potensi khamir asal saluran pencernaan lebah madu (*Apis mellifera*) sebagai agen probiotik. Persyaratan agen probiotik yang diujikan meliputi toleransi khamir terhadap kondisi stres di saluran pencernaan manusia seperti pengujian toleransi garam empedu, pengujian toleransi asam lambung, dan pengujian aktivitas antibakteri.

B. Perumusan Masalah

Perumusan masalah penelitian ini adalah :

1. Apakah pada saluran pencernaan lebah madu (*Apis mellifera*) terdapat khamir?
2. Apakah khamir yang diisolasi dari saluran pencernaan lebah madu (*Apis mellifera*), memiliki potensi sebagai agen probiotik dengan pengujian toleransi stress (toleransi garam empedu dan toleransi asam lambung), dan pengujian aktivitas anti bakteri?
3. Apakah jenis khamir yang telah diidentifikasi makroskopik, mikroskopik dan molekuler DNA daerah D1/D2 rDNA, yang diisolasi dari saluran pencernaan lebah madu (*Apis mellifera*) memiliki potensi sebagai agen probiotik?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan isolat khamir dari saluran pencernaan lebah madu (*Apis mellifera*).
2. Mendapatkan isolat khamir asal saluran pencernaan lebah madu (*Apis mellifera*) yang memiliki potensi sebagai agen probiotik dengan pengujian toleransi stress (toleransi garam empedu dan toleransi asam lambung), dan aktivitas anti bakteri.
3. Mengetahui jenis khamir asal saluran pencernaan lebah madu (*Apis mellifera*) yang memiliki potensi sebagai agen probiotik berdasarkan analisis data pengamatan secara makroskopik, mikroskopik dan molekuler DNA daerah D1/D2 rDNA.

D. Manfaat Penelitian

1. Menghasilkan khamir asal saluran pencernaan lebah madu (*Apis mellifera*) yang tahan terhadap toleransi stress seperti garam empedu dan asam lambung; serta aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen.
2. Memberikan informasi jenis-jenis khamir asal saluran pencernaan lebah madu (*Apis mellifera*) sebagai agen probiotik.
3. Dapat dijadikan sumber informasi tambahan bagi peneliti berikutnya.