

**ISOLASI KHAMIR POTENSIAL PROBIOTIK ASAL
SALURAN PENCERNAAN LEBAH MADU (*Apis mellifera*)**

Skripsi

**Disusun untuk memenuhi salah satu syarat
memperoleh gelar Sarjana Sains**



**SHOFFIA MEDINA AL HAQ
1308619044**



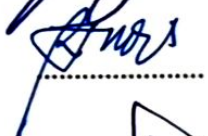




**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA**

2024

LEMBAR PENGESAHAN

ISOLASI KHAMIR POTENSIAL PROBIOTIK ASAL SALURAN PENCERNAAN LEBAH MADU (*Apis mellifera*)

Nama : Shoffia Medina Al Haq
Nomor Registrasi : 1308619044

	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Penanggung Jawab			
Dekan	: <u>Prof. Dr. Muktiningsih N., M.Si.</u> NIP. 19640511 198903 2 001		08/08/24
Wakil Penanggung Jawab			
Wakil Dekan I	: <u>Dr. Esmar Budi, S.Si., MT.</u> NIP. 19720728 199903 1 002		08/08/24
Ketua	: <u>Dr. Reni Indrayanti, M. Si.</u> NIP. 196202311998032002		06/08/24
Sekretaris/Penguji I	: <u>Dr. Adisyahputra, MS.</u> NIP. 19601111 198703 1 003		24/07/2024
Anggota			
Pembimbing I	: <u>Dr. Dalia Sukmawati, M.Si.</u> NIP. 19730914 200604 2 001		02/08/2024
Pembimbing II	: <u>Rizal Koen Asharo, S.Si., M.Si.</u> NIP. 19920608 2019031012		23/07/2024
Penguji II	: <u>Annisa Wulan A. U., S.Si., M.Si.</u> NIP. 199108012019032016		01/08/24

Dinyatakan lulus ujian skripsi pada tanggal 19 Juli 2024

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul **“Isolasi Khamir Potensial Probiotik Asal Saluran Pencernaan Lebah Madu (*Apis mellifera*)”** yang disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dari Program Studi Biologi Universitas Negeri Jakarta adalah karya ilmiah saya dengan arahan dari dosen pembimbing.

Sumber informasi yang diperoleh dari penulis lain yang telah dipublikasikan yang disebut dalam teks skripsi ini, telah dicantumkan dalam Daftar Pustaka sesuai dengan norma, kaidah dan etika penulisan ilmiah.

Jika dikemudian hari ditemukan sebagian besar skripsi ini bukan hasil karya saya sendiri dalam bagian-bagian tertentu, saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya sanding dan sanksi-sanksi lainnya sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Jakarta, 23 Juli 2024



Shoffia Medina AlHaq



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA
UPT PERPUSTAKAAN

Jalan Rawamangun Muka Jakarta 13220
Telepon/Faksimili: 021-4894221
Laman: lib.unj.ac.id

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Negeri Jakarta, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Shoffia Medina Al Haq
NIM : 1308619044
Fakultas/Prodi : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Biologi
Alamat email : shoffiamedinaalhaq04@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada UPT Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah:

Skripsi Tesis Disertasi Lain-lain (... ..)

yang berjudul : ISOLASI KHAMIR POTENSIAL PROBIOTIK ASAL SALURAN PENCERNAAN LEBAH MADU (*Apis mellifera*)

Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini UPT Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta berhak menyimpan, mengalihmediakan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta, 23 Juli 2024

Penulis

(Shoffia Medina Al Haq)
nama dan tanda tangan

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmaanirrahiim

Puji syukur dipanjatkan kepada Allah SWT karena atas rahmat dan ridho-Nya serta kasih sayang-Nya saya dapat menyelesaikan dengan lancar penyusunan skripsi ini dengan judul “**Isolasi Khamir Potensial Probiotik Asal Saluran Pencernaan Lebah Madu (*Apis mellifera*)**”. Sholawat serta salam semoga selalu tercurah kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat serta para pengikutnya hingga akhir zaman.

Skripsi ini saya susun sebagai salah satu syarat dalam meraih gelar sarjana sains. Selama proses penyusunan skripsi ini saya mendapat banyak sekali pembelajaran baik mengenai teori sains, praktik pengerjaannya, maupun dalam hal pendewasaan diri dalam suatu kondisi yang mengharuskan saya mengambil suatu keputusan. Hal lainnya, saya menyadari bahwa proses penyusunan skripsi ini mendapat banyak bantuan baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, saya ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Dr. Dalia Sukmawati, M.Si, sebagai dosen pembimbing 1 dan koordinator Program Studi Biologi Universitas Negeri Jakarta yang telah meluangkan waktu, tenaga, juga selalu memberikan motivasi, memberikan bimbingan, mengajarkan mengenai kedisiplinan, kejujuran dan tanggung jawab serta kesempatan untuk terus mengembangkan diri kepada penulis selama berkuliah di Program Studi Biologi Universitas Negeri Jakarta. Kepada Bapak Rizal Koen Asharo, M.Si., sebagai dosen pembimbing 2 yang telah memberikan motivasi, bimbingan, masukan dan kesabaran untuk membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Kepada Ibu Dr. Reni Indrayanti, M.Si., Bapak Dr. Adisyahputra, MS. dan Ibu Annisa Wulan Agus U., S.Si. selaku Ketua sidang, dosen penguji satu dan dua yang telah memberikan kritik serta saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini.

Penulis juga ingin mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada Ayah (Iswadi), Ibu (Eti setianingsih), adik-adik saya (Nuramaniah Al Hayat, David Nur Al Alam, dan Aldrich Abbie Al Salam), serta saudara-saudara saya yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu. Yang selalu senantiasa memberikan doa yang tiada henti, mengajarkan mengenai kedisiplinan, kejujuran dan tanggung jawab, serta

tiada henti memberikan semangat kepada saya. Semoga Allah selalu memberkahi kehidupan kalian. Kepada Rekan seperjuangan skripsi Violina Nabilah, kakak, dan adik-adikku di keluarga kecil mikrobiologi, yang telah senantiasa membantu penulis dan mengisi hari-hari di laboratorium mikrobiologi selama penelitian. Kepada sahabat-sahabat terbaikku, Nazlihatunnisa, Dwi Sisi Marnasih, Dien Khaznah, dan Mila Patmala yang telah mendengarkan keluh kesah, memberikan semangat, membantu, mendukung dan menemani selama menjalani perkuliahan di Biologi UNJ. Kepada teman-teman biologi angkatan 2019, yang selalu memberikan dukungan dan pengalaman pertemanan kepada saya. Semoga selalu dimudahkan dalam segala urusannya. Kemudian penulis juga ingin mengucapkan terimakasih kepada hibah program International Collaboration Research Hibah BLU Universitas Negeri Jakarta atas nama Ibu Dr. Dalia Sukmawati, M.Si. dengan judul *“The Power of Indigenous Indonesian Yeast: A Holistic Omics Approach to Enhance Fermentation, Combat Pathogenic, Molds, and Elevate Cocoa Bean Metabolic Quality”* yang telah mendukung saya dalam menyelesaikan penelitian ini.

Penulis sadar bahwa skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi perbaikan selanjutnya. Akhirnya, penulis berharap hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan secara umum, dan khususnya bagi penulis sendiri. Semoga Allah SWT senantiasa menambahkan ilmu kepada kita semua dan semoga segala hal yang telah dikerjakan mendapatkan ridha-Nya, Amin.

Jakarta, 23 Juli 2024



Shoffia Medina Al Haq

ABSTRAK

SHOFFIA MEDINA AL HAQ. Isolasi Khamir Potensial Probiotik Asal Saluran Pencernaan Lebah Madu (*Apis mellifera*). Skripsi, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta. Juli 2024.

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang memberikan manfaat jika diberikan dalam jumlah yang cukup. Khamir dapat ditemukan bergantung pada sumber gula, seperti halnya serangga pengonsumsi makanan yang terdapat sumber gula yang salah satunya adalah lebah madu (*Apis mellifera*). Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat khamir asal saluran pencernaan lebah yang potensial sebagai agen probiotik serta mendapatkan identitas khamir tersebut. Pengujian probiotik terdiri dari uji toleransi garam empedu (0%, 0,5%, 1%, 1,5%, dan 2%); toleransi asam lambung pada pH 2 (variasi waktu inkubasi 0, 3, 6, dan 9 jam); aktivitas antibakteri terhadap *Listeria monocytogenes* dan *Salmonella enteritidis*. Desain penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data dianalisis menggunakan anava dua arah kemudian dilanjutkan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%. Diperoleh 11 isolat dari hasil isolasi khamir. Skrining PBS pH 2 dipilih empat isolat khamir untuk pengujian lanjut uji probiotik yaitu L5.3 (UNJCC Y-172), L9.3 (UNJCC Y-173), L12.4 (UNJCC Y-174), dan L20.2 (UNJCC Y-175). Hasil identifikasi daerah D1/D2 rDNA diperoleh identitas keempat khamir adalah *Starmerella potacharoeniae* dengan tingkat homologi sebesar 99,11% dan *bootstrap* 93%. Pengujian garam empedu dan asam lambung menunjukkan seluruh isolat uji mampu tumbuh hingga konsentrasi 2% dan waktu inkubasi 9 jam dengan persentase bertahan hidup >70%. Pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa seluruh khamir uji kecuali *Starmerella potacharoeniae* UNJCC Y-174 mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella enteritidis* dan seluruh isolat tidak dapat menghambat pertumbuhan *Listeria monocytogenes*.

Kata Kunci: probiotik, khamir, *Apis mellifera*.

ABSTRACT

SHOFFIA MEDINA AL HAQ. Isolation Of Yeast Isolated From Digestive Tract Of Honey Bees (*Apis mellifera*) For Potential Use As Probiotics. Mini Thesis, Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Jakarta. July 2024.

Probiotics are live microorganisms that provide benefits if given in sufficient quantities. Yeast can be found depending on the source of sugar, as well as insects that consume food containing sugar sources, one of which is honey bees (*Apis mellifera*). This study aims to obtain isolates of yeast from the digestive tract of bees that are potential as probiotic agents and obtain the identity of these yeasts. Probiotic testing consisted of bile salt tolerance test (0%, 0.5%, 1%, 1.5%, and 2%); gastric acid tolerance at pH 2 (incubation time variation of 0, 3, 6, and 9 hours); antibacterial activity against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enteritidis*. The research design used a completely randomized design (RAL). Data were analyzed using two-way ANOVA followed by Duncan Multiple Range Test (DMRT) 5%. Obtained 11 isolates from the isolation of yeast. Screening PBS pH 2 selected four yeast isolates for further testing probiotic test, namely L5.3 (UNJCC Y-172), L9.3 (UNJCC Y-173), L12.4 (UNJCC Y-174), and L20.2 (UNJCC Y-175). The results of the identification of the D1/D2 rDNA region obtained the identity of the four yeasts is *Starmerella potacharoeniae* with a homology level of 99.11% and 93% bootstrap. Bile salt and gastric acid testing showed that all test isolates were able to grow up to a concentration of 2% and an incubation time of 9 hours with a survival percentage of >70%. Antibacterial activity testing showed that all test yeasts except *Starmerella potacharoeniae* UNJCC Y-174 were able to inhibit the growth of *Salmonella enteritidis* bacteria and all isolates could not inhibit the growth of *Listeria monocytogenes*.

Keywords: *probiotic, yeast, Apis mellifera.*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iii
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	iii
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Lebah Madu (<i>Apis mellifera</i>)	5
B. Probiotik	8
C. Khamir Potensial Probiotik	9
D. Seleksi Probiotik	9
1. Toleransi Khamir Terhadap Garam Empedu	10
2. Toleransi Khamir Terhadap Asam Lambung	10
3. Aktivitas antibakteri	10
BAB III METODE PENELITIAN	12
A. Tempat dan Waktu Penelitian	12
B. Metode Penelitian	12
C. Alat dan Bahan	12
D. Sampel Penelitian	13
1. Pemeliharaan dan Masa Aklimatisasi Lebah	15
2. Persiapan Sampel Lebah	15
3. Isolasi Khamir dari Saluran Pencernaan Lebah	15
4. Peremajaan Isolat Khamir	16
5. Skrining Isolat Khamir pada pH 2	17
6. Identifikasi Khamir Secara Molekular	17
7. Karakterisasi Morfologi Khamir	19
8. Pengujian Probiotik pada Isolat Khamir	19
9. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	24
A. Karakterisasi Isolat Khamir Asal Lebah Madu (<i>Apis mellifera</i>)	24
B. Skrining Isolat Khamir Pada pH 2	27
C. Identifikasi Molekuler	29

D. Karakteristik Morfologi Khamir.....	33
E. Potensi Isolat Khamir Sebagai Agen Probiotik	36
1. Toleransi Isolat Khamir terhadap Garam Empedu	36
2. Toleransi Isolat Khamir Terhadap Asam Lambung	39
3. Uji Aktivitas Antibakteri Khamir terhadap Bakteri Patogen.....	42
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	45
A. Kesimpulan.....	45
B. Saran	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN.....	56
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	77

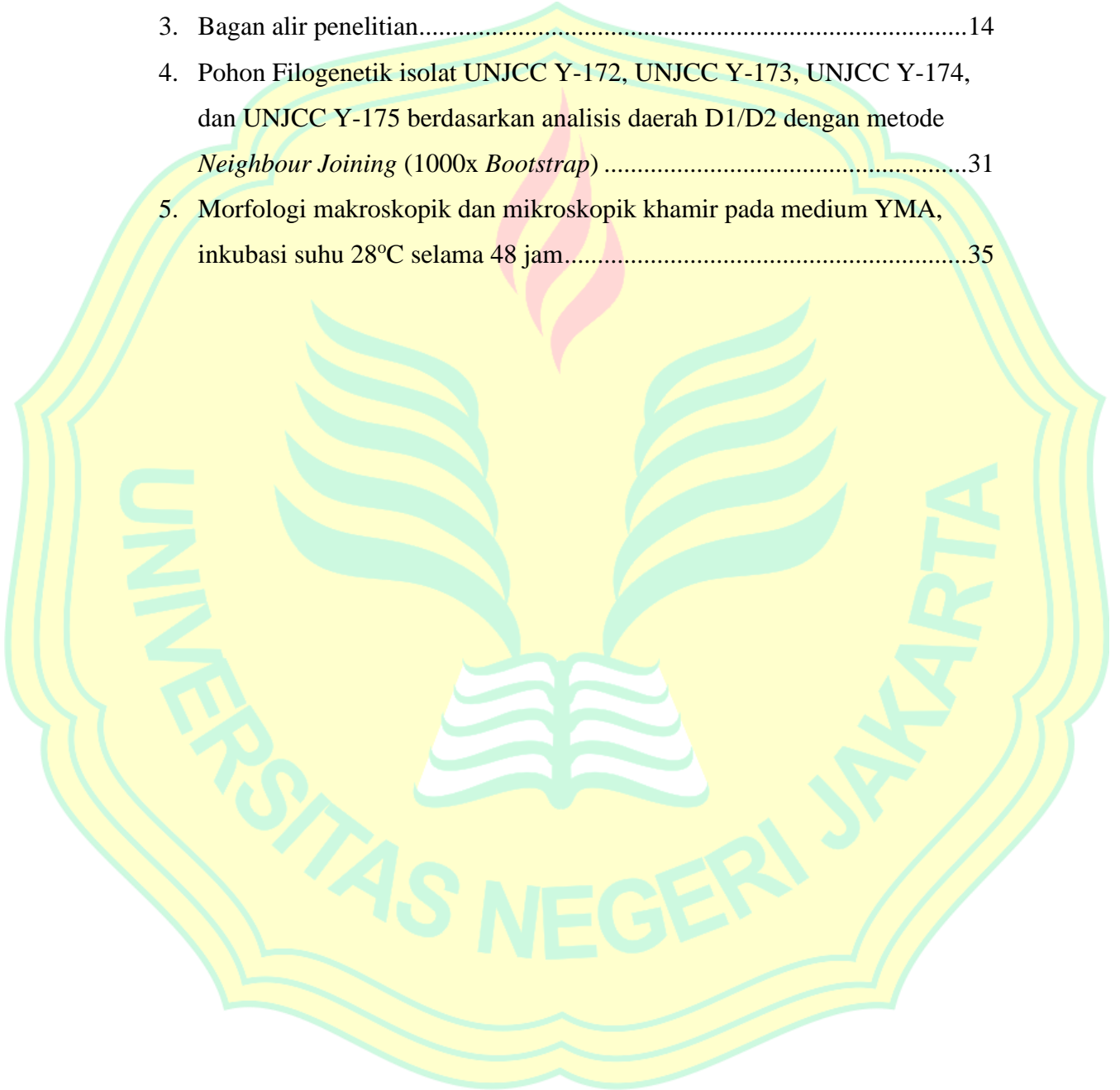


DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Hasil Isolasi Khamir Asal Saluran Pencernaan Lebah Madu (<i>Apis mellifera</i>) pada Media Yeast Malt Agar (YMA) dengan Modifikasi Glukosa 30% dan 50 %	24
2. Hasil pengamatan makroskopik khamir asal saluran pencernaan lebah madu (<i>Apis mellifera</i>) pada medium YMA berumur 48 jam	25
3. Nilai Absorbansi (OD) isolat khamir asal saluran pencernaan lebah madu (<i>Apis mellifera</i>) pada uji skrining khamir pH 2 menggunakan media <i>Phosphate Buffer Saline</i> (PBS) pH 2, umur isolat 48 jam	28
4. Hasil identifikasi molekuler isolat khamir UNJCC Y-172, UNJCC Y-173, UNJCC Y-174, dan UNJCC Y-175 berdasarkan analisis sekuen daerah D1/D2 rDNA dengan program BLAST	30
5. Pengamatan makroskopik khamir pada medium YMA, inkubasi selama 48 jam	33
6. Pengamatan mikroskopik khamir.....	34
7. Jumlah koloni khamir (log CFU/mL) pada konsentrasi garam empedu 0%, 0,5%, 1,0%, 1,5%, dan 2%.....	37
8. Presentase bertahan hidup koloni khamir (log CFU/mL) pada konsentrasi garam empedu 0%, 0,5%, 1,0%, 1,5%, dan 2%	38
9. Presentase bertahan isolat uji toleransi waku inkubasi pH 2 di 0, 3, 6, dan 9 jam.....	40
10. Persentase bertahan hidup isolat uji pada toleransi waktu inkubasi di 0, 3, 6, dan 9 jam.....	41
11. Hasil uji aktivitas antibakteri isolat khamir terhadap bakteri <i>Salmonella enteritidis</i> dan <i>Listeria monocytogenes</i>	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. <i>Apis mellifera</i>	6
2. Saluran Pencernaan Lebah Madu (<i>Apis mellifera</i>).....	8
3. Bagan alir penelitian.....	14
4. Pohon Filogenetik isolat UNJCC Y-172, UNJCC Y-173, UNJCC Y-174, dan UNJCC Y-175 berdasarkan analisis daerah D1/D2 dengan metode <i>Neighbour Joining</i> (1000x <i>Bootstrap</i>)	31
5. Morfologi makroskopik dan mikroskopik khamir pada medium YMA, inkubasi suhu 28°C selama 48 jam.....	35



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

1. Gambar 6. Hasil purifikasi isolat khamir asal saluran pencernaan lebah madu (<i>Apis mellifera</i>) menggunakan medium YMA, inkubasi 24 jam	59
2. Gambar 7. Hasil Amplifikasi isolat khamir	59
3. Gambar 8. Kromatogram daerah D1/D2 rDNA isolat UNJCC Y-172 dengan primer NL1.....	60
4. Gambar 9. Kromatogram daerah D1/D2 rDNA isolat UNJCC Y-172 dengan primer NL4.....	60
5. Gambar 10. Kromatogram daerah D1/D2 rDNA isolat UNJCC Y-173 dengan primer NL1.....	61
6. Gambar 11. Kromatogram daerah D1/D2 rDNA isolat UNJCC Y-173 dengan primer NL4.....	61
7. Gambar 12. Kromatogram daerah D1/D2 rDNA isolat UNJCC Y-174 dengan primer NL1.....	62
8. Gambar 13. Kromatogram daerah D1/D2 rDNA isolat UNJCC Y-174 dengan primer NL4.....	62
9. Gambar 14. Kromatogram daerah D1/D2 rDNA isolat UNJCC Y-175 dengan primer NL1.....	63
10. Gambar 15. Kromatogram daerah D1/D2 rDNA isolat UNJCC Y-175 dengan primer NL4.....	63
11. Hasil pengujian toleransi isolat khamir terhadap variasi konsentrasi garam empedu (0; 0,5; 1; 1,5; dan 2%).....	64
12. Hasil pengujian toleransi isolat khamir terhadap asam lambung pH 2 pada waktu inkubasi 0, 3, 6, dan 9 jam.....	65
13. Hasil pengujian aktivitas antibakteri.....	66
14. Hasil uji F anava dua arah univariate jumlah koloni khamir (log CFU/mL) ...	67
15. Hasil uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) faktor interaksi isolat dan konsentrasi garam empedu terhadap jumlah koloni khamir (log CFU/mL) ...	68
16. Hasil uji anava dua arah univariate persentase bertahan hidup (%).....	69
17. Hasil uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) faktor interaksi isolat dan konsentrasi garam empedu terhadap persentase bertahan hidup	70

18. Hasil uji anava dua arah univariate jumlah koloni khamir (log CFU /ml)	71
19. Hasil uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) faktor interaksi isolat dan waktu inkubasi terhadap jumlah koloni khamir (log CFU/mL).....	72
20. Hasil uji anava dua arah univariate persentase bertahan hidup (%) khamir ...	74
21. Hasil uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) faktor interaksi isolat dan waktu inkubasi terhadap persentase bertahan hidup	75
21. Surat izin etik hewan.....	76

