

**ISOLASI DAN UJI KEMAMPUAN KHAMIR SEBAGAI
AGEN PROBIOTIK ASAL MADU DAN SARANG
LEBAH (*Apis mellifera*)**

Skripsi

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



**VIOLINA NABILAH
1308619051**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA
2024**

LEMBAR PENGESAHAN

ISOLASI DAN UJI KEMAMPUAN KHAMIR SEBAGAI AGEN PROBIOTIK ASAL MADU DAN SARANG LEBAH (*Apis mellifera*)

Nama : **Violina Nabilah**
Nomor Registrasi : **1308619051**

	Nama	Tanggal
Penanggung Jawab	Panda Tengan	
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. 19621022 199803 2 002	06/08/24
Sekretaris/Penguji I	: <u>Dr. Adisyahputra, M.S.</u> NIP. 196011111 198703 1 003	24/07/24
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 201903 1 012	23/07/24
Penguji II	: <u>Annisa Wulan Agus U., S.Si., M.Si.</u> NIP. 199108012019032016	01/08/24

Dinyatakan lulus ujian skripsi pada tanggal 19 Juli 2024

LEMBAR PERNYATAAN

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul **“Isolasi dan Uji Kemampuan Khamir sebagai Agen Probiotik asal Madu dan Sarang Lebah (*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



Violina Nabilah



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 : Violina Nabilah
NIM : 1308619051
Fakultas/Prodi : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam / Biologi
Alamat email : Violinanab@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 dan Uji Kemampuan Khamir sebagai Agen Probiotik asal Madu dan Sarang Lebah

(*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

Violina Nabilah

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmaanirrahiim

Puji syukur dipanjatkan kepada Allah SWT karena atas rahmat dan ridhoNya serta kasih sayangNya saya dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini dengan judul “**Isolasi dan Uji Kemampuan Khamir sebagai Agen Probiotik asal Madu dan Sarang Lebah (*Apis mellifera*)**”. Sholawat serta salam semoga selalu tercurah kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat serta para pengikutnya. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat dalam meraih gelar sarjana sains. Selama proses penyusunan skripsi ini saya mendapat banyak sekali pembelajaran baik mengenai teori sains maupun dalam hal pendewasaan diri. Selain itu, 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 Prodi Biologi FMIPA UNJ yang telah meluangkan waktu, tenaga, juga selalu memberikan motivasi, dan kesempatan untuk terus mengembangkan diri kepada penulis selama berkuliah di Prodi Biologi Universitas Negeri Jakarta, Bapak Rizal Koen Asharo, M.Si., sebagai dosen pembimbing 2 yang telah memberikan bimbingan, motivasi, masukan dan kesabaran untuk membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini, Bapak Dr. Adisyahputra, MS. dan Ibu Annisa Wulan Agus U., S.Si., M.Si. selaku dosen penguji satu dan dua, dan Ibu Dr. Reni Indrayanti, M. Si selaku ketua sidang yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini. Kemudian, penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada 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 Eelevate Cocoa Bean Metabolite Quality” yang telah mendukung saya dalam menyelesaikan penelitian ini.

Rasa terima kasih juga penulis sampaikan kepada Ayah dan Ibu saya yang selalu mendukung moral dan materil, menyemangati dalam mendapatkan

pendidikan dan memberikan doa yang tiada henti. Semoga Allah selalu memberkahi kehidupan kalian, rekan seperjuangan skripsi Shoffia, kakak, dan adik-adikku di keluarga kecil mikrobiologi yang telah senantiasa membantu penulis dan mengisi hari-hari di laboratorium mikrobiologi selama penelitian, Sahabat-sahabat terbaikku, Savrila, Ayu, Faiqah, Lita, dan Dinda yang telah membantu, mendukung dan menemani selama menjalani perkuliahan di biologi UNJ, dan teman-teman biologi angkatan 2019, yang selalu memberikan dukungan dan pengalaman pertemanan kepada saya. Semoga selalu dimudahkan dalam segala urusannya.

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

Violina Nabilah

ABSTRAK

Violina Nabilah. Isolasi dan Uji Kemampuan Khamir sebagai Agen Probiotik asal Madu dan Sarang Lebah (*Apis mellifera*). Skripsi, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta. Juli 2024.

Probiotik merupakan mikroorganisme yang hidup dan aktif secara biologis, yang apabila diberikan dalam jumlah yang cukup akan memberikan efek yang menguntungkan. Khamir dapat ditemukan di lingkungan dengan kadar gula yang tinggi, seperti pada sampel madu dan sarang lebah. Penelitian ini bertujuan untuk melihat potensi khamir asal madu dan sarang lebah sebagai agen probiotik. Penelitian dilakukan dengan isolasi khamir dari sarang lebah dan madu, identifikasi jenis khamir secara makroskopik, mikroskopik dan molekuler DNA daerah D1/D2 rDNA, dan dilakukan pengujian seleksi probiotik toleransi garam empedu (konsentrasi 0; 0,5; 1; 1,5, dan 2%), toleransi asam lambung (waktu inkubasi 0, 3, 6 dan 9 jam), dan pengujian aktivitas antibakteri (terhadap bakteri *S. enteritidis* dan *L. monocytogenes*). Analisis data kuantitatif pada pengujian toleransi garam empedu dan toleransi asam lambung dan antibakteri dianalisis menggunakan software SPSS v17 dengan ANAVA dua arah Apabila hasil menunjukkan angka signifikansi dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5% untuk melihat perbedaan pengaruh tiap perlakuan. Hasil penelitian isolasi didapatkan 5 isolat khamir asal sarang lebah dan 9 isolat khamir asam madu. Hasil analisis sekuen daerah D1/D2 rDNA menunjukkan bahwa isolat khamir UNJCC Y-165 dan UNJCC Y-168 adalah *Z. siamensis*, khamir UNJCC Y-170 adalah *C. magnoliae*, dan khamir UNJCC Y-171 adalah sebagai *R. taiwanensis*. Pengujian toleransi garam empedu dan asam lambung pH 2 menunjukkan semua khamir uji mampu bertahan hidup hingga konsentrasi garam empedu 2% dan pada waktu 6 jam inkubasi (persentase bertahan hidup >70%). Pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan semua khamir uji mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *S. enteritidis* dan tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *L. monocytogenes*.

Kata kunci: khamir, madu, probiotik, sarang lebah

ABSTRACT

Violina Nabilah. Isolation and Testing the Ability of Yeast as Probiotic Agent from Honey and Beehive (*Apis mellifera*). Undergraduate Thesis, Biology, Faculty of Mathematics and Natural Science, Universitas Negeri Jakarta. July 2024.

Probiotics are live, biologically active microorganisms that, when administered in sufficient amounts, have a beneficial effect. Yeasts can be found in environments with high sugar content, such as in honey and honeycomb samples. This study aims to look at the potential of yeasts from honey and honeycomb as probiotic agents. The research was carried out by isolating yeasts from honeycombs and honey, identifying yeast species macroscopically, microscopically and molecular DNA D1/D2 rDNA regions, and testing probiotic selection for bile salt tolerance (concentrations of 0; 0.5; 1; 1.5, and 2%), gastric acid tolerance (incubation times of 0, 3, 6 and 9 hours), and testing antibacterial activity (against *S. enteritidis* and *L. monocytogenes* bacteria). Quantitative data analysis in testing bile salt tolerance and gastric acid tolerance and antibacterial activity was analysed using SPSS v17 software with two-way ANOVA. If the results show significance, a further test of Duncan Multiple Range Test (DMRT) 5% is carried out to see differences in the effect of each treatment. The results of isolation research obtained 5 isolates of yeast from honeycomb and 9 isolates of honey acid yeast. Sequence analysis of the D1/D2 rDNA region showed that the isolates of UNJCC Y-165 and UNJCC Y-168 were *Z. siamensis*, UNJCC Y-170 was *C. magnoliae*, and UNJCC Y-171 was *R. taiwanensis*. Tolerance testing of bile salt and gastric acid pH 2 showed that all test yeasts were able to survive up to 2% bile salt concentration and at 6 hours of incubation (percentage survival >70%). Antibacterial activity testing showed that all test yeasts were able to inhibit the growth of pathogenic bacteria *S. enteritidis* and were unable to inhibit the growth of *L. monocytogenes* bacteria.

Keywords: yeast, honey, probiotics, beehives

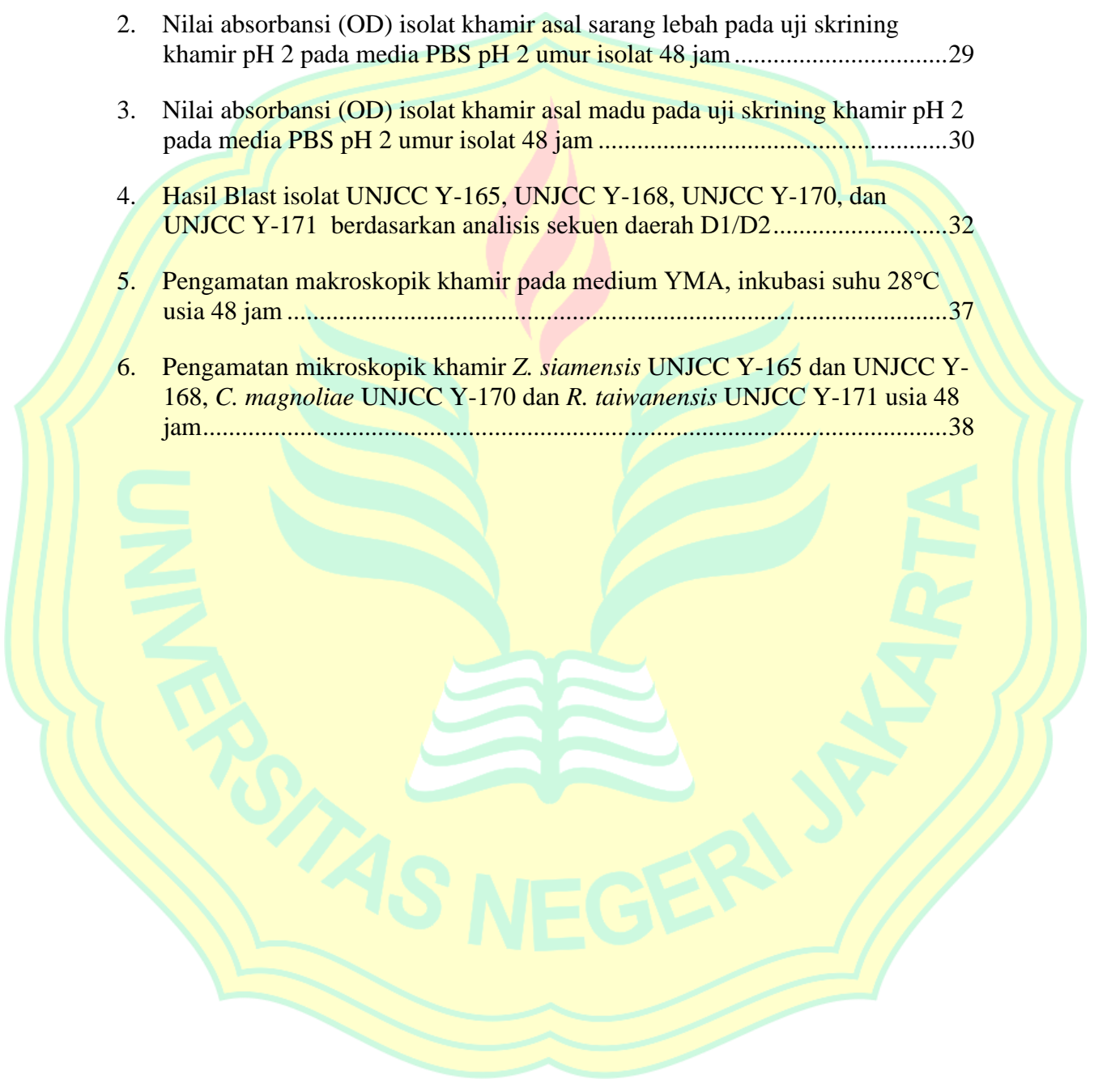
DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iii
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II KAJIAN PUSTAKA	5
A. Lebah Madu (<i>Apis mellifera</i>)	5
B. Sarang Lebah	7
C. Madu	8
D. Probiotik	10
E. Khamir Probiotik	11
F. Seleksi Khamir Probiotik	12
G. Identifikasi Molekular Khamir	14
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	15
A. Tempat dan Waktu Penelitian	15
B. Metode Penelitian	15
C. Alat dan Bahan	15
D. Sampel Penelitian	16
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	25
1. Karakterisasi Isolat Khamir Asal Sarang Lebah dan Madu	25
2. Skrining Isolat Khamir pada pH 2	29
4. Karakteristik Morfologi Khamir	35
5. Potensi Isolat Khamir sebagai Agen Probiotik	40
a. Toleransi Isolat Khamir terhadap Garam Empedu	40
b. Toleransi Isolat Khamir terhadap Asam Lambung	44
c. Aktivitas Antibakteri Isolat Khamir terhadap Bakteri Patogen ..	48
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	51
LAMPIRAN	63
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	87

DAFTAR TABEL

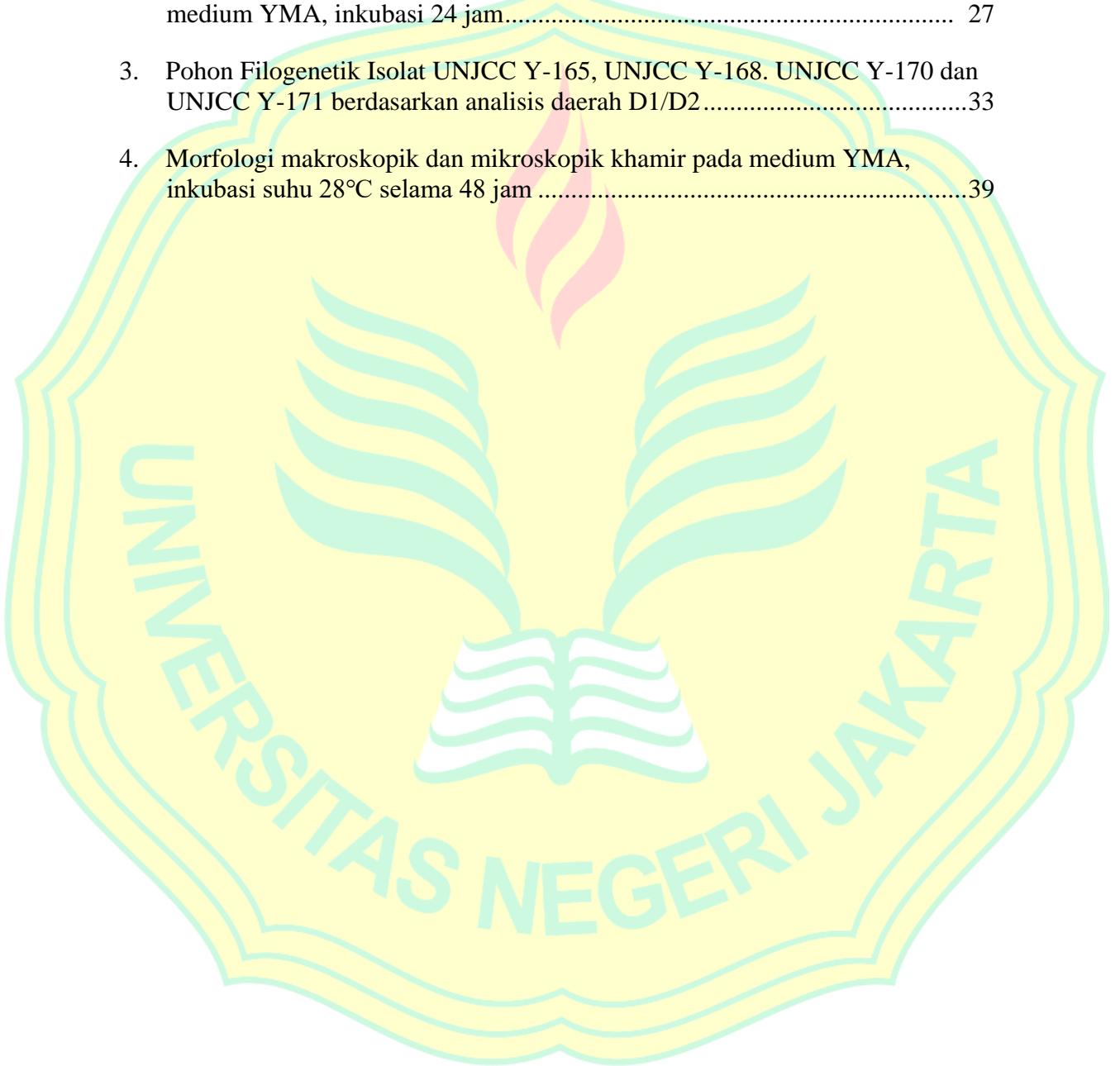
Halaman

1. Hasil isolasi khamir asal sarang lebah dan madu pada medium YMA berumur 48 jam.....	26
2. Nilai absorbansi (OD) isolat khamir asal sarang lebah pada uji skrining khamir pH 2 pada media PBS pH 2 umur isolat 48 jam	29
3. Nilai absorbansi (OD) isolat khamir asal madu pada uji skrining khamir pH 2 pada media PBS pH 2 umur isolat 48 jam	30
4. Hasil Blast isolat UNJCC Y-165, UNJCC Y-168, UNJCC Y-170, dan UNJCC Y-171 berdasarkan analisis sekuen daerah D1/D2.....	32
5. Pengamatan makroskopik khamir pada medium YMA, inkubasi suhu 28°C usia 48 jam	37
6. Pengamatan mikroskopik khamir <i>Z. siamensis</i> UNJCC Y-165 dan UNJCC Y-168, <i>C. magnoliae</i> UNJCC Y-170 dan <i>R. taiwanensis</i> UNJCC Y-171 usia 48 jam.....	38



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. <i>Apis mellifera</i>	7
2. Hasil purifikasi isolat khamir asal sarang lebah dan madu menggunakan medium YMA, inkubasi 24 jam.....	27
3. Pohon Filogenetik Isolat UNJCC Y-165, UNJCC Y-168. UNJCC Y-170 dan UNJCC Y-171 berdasarkan analisis daerah D1/D2.....	33
4. Morfologi makroskopik dan mikroskopik khamir pada medium YMA, inkubasi suhu 28°C selama 48 jam	39



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

1. Komposisi dan Pembuatan Medium	63
2. Sterilisasi Peralatan dan Medium.....	65
3. Bagan Alir Penelitian	66
4. Pembuatan suspensi sel khamir, stock, dan working culture	67
5. Hasil pengamatan makroskopik khamir asal sarang lebah dan madu.....	68
6. Hasil amplifikasi khamir asal sarang lebah dan madu	69
7. Kromatogram daerah DI/D2 rDNA isolat UNJCC Y-170.....	70
8. Kromatogram daerah DI/D2 rDNA isolat UNJCC Y-171	71
9. Kromatogram daerah DI/D2 rDNA isolat UNJCC Y-165	72
10. Kromatogram daerah DI/D2 rDNA isolat UNJCC Y-170.....	73
11. Hasil pengujian toleransi isolat khamir terhadap variasi konsentrasi garam empedu (0; 0,5; 1; 1,5; dan 2%).....	74
12. Hasil pengujian toleransi isolat khamir terhadap asam lambung pH 2 pada waktu inkubasi 0, 3, 6, dan 9 jam.....	75
13. Hasil pengujian aktivitas antibakteri.....	76
14. Hasil uji F anava dua arah univariate nilai absorbansi (OD) pada uji skrining pH rendah isolat asal sarang lebah.....	77
15. Hasil uji F anava dua arah univariate nilai absorbansi (OD) pada uji skrining pH rendah isolat asal sarang lebah.....	77
16. Hasil uji F anava dua arah <i>univariate</i> jumlah koloni khamir (log CFU /mL).78	
17. Hasil uji <i>Duncan Multiple Range Test</i> (DMRT) faktor interaksi isolat dan konsentrasi garam empedu terhadap jumlah koloni khamir (log CFU/mL) ...79	
18. Hasil uji F anava dua arah univariate persentase bertahan hidup (%) uji garam empedu	80
19. Hasil uji <i>Duncan Multiple Range Test</i> (DMRT) faktor interaksi isolat dan konsentrasi garam empedu terhadap persentase bertahan hidup	81

20. Hasil uji F anava dua arah univariate jumlah koloni khamir (log CFU /ml) pada uji asam lambung.....82
21. Hasil uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) faktor interaksi isolat dan waktu inkubasi pada pH 2 terhadap jumlah koloni khamir (log CFU/ml).....83
22. Hasil uji F anava dua arah univariate jumlah koloni khamir (log CFU /ml) pada uji asam lambung.....84
23. Hasil uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) faktor interaksi isolat dan waktu inkubasi pada pH 2 terhadap persentase bertahan hidup khamir (%). .85
24. Hasil uji F anava dua arah univariate ukuran zona bening (cm).....86

