



UNIVERSITAS INDONESIA

**PEMBUATAN DAN PEMBERIAN *POLLEN SUBSTITUTE*
MENGUNAKAN *Candida hawaiiana* CR015 SEBAGAI PAKAN
TAMBAHAN *Apis cerana* (Fabricius)**

SKRIPSI

**BREGAS ADI LUHUR
0706263725**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN BIOLOGI
DEPOK
JUNI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PEMBUATAN DAN PEMBERIAN *POLLEN SUBSTITUTE*
MENGUNAKAN *Candida hawaiiana* CR015 SEBAGAI PAKAN
TAMBAHAN *Apis cerana* (Fabricius)**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains

**BREGAS ADI LUHUR
0706263725**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN BIOLOGI
DEPOK
JUNI 2012**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.**

Nama : Bregas Adi Luhur

NPM : 0706263725

Tanda Tangan :




Tanggal : 28 Juni 2012


HALAMAN PENGESAHAN

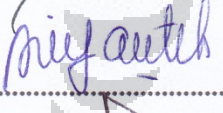
Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Bregas Adi Luhur
NPM : 0706263725
Program Studi : Biologi S1 Reguler
Judul Skripsi : Pembuatan dan Pemberian *Pollen Substitute*
Menggunakan *Candida hawaiiiana* CR015 sebagai
Pakan Tambahan *Apis cerana* (Fabricius).

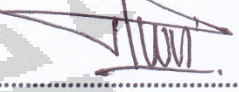
Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi S1 Reguler, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Wellyzar Sjamsuridzal, Ph.D. (.....) 

Pembimbing II : Dr. Adi Basukriadi, M.Sc. (.....) 

Penguji I : Ariyanti Oetari, Ph.D. (.....) 

Penguji II : Drs. Wisnu Wardhana, M.Si. (.....) 

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 28 Juni 2012

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan kemudahan dan kelancaran bagi penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW.

Penulis mengucapkan terima kasih setulus-tulusnya kepada:

1. Wellyzar Sjamsuridzal, Ph.D. dan Dr. Adi Basukriadi, M.Sc. selaku Pembimbing I dan II yang telah membimbing dan memberi saran bagi Penulis dalam penelitian dan penulisan skripsi ini. Terima kasih atas segala bimbingan, waktu, dukungan, semangat, dan saran sehingga Penulis dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Ariyanti Oetari, Ph.D. dan Drs. Wisnu Wardhana, M.Si. selaku dosen Penguji I dan II yang telah memberikan saran, perbaikan-perbaikan, dukungan, dan doa kepada Penulis untuk pembuatan dan perbaikan skripsi ini;
3. Retno Lestari, M.Si. selaku Penasihat Akademik atas segala dukungan, saran-saran, serta waktu yang selalu diberikan selama Penulis menempuh pendidikan di Departemen Biologi FMIPA UI;
4. Dr. Wibowo Mangunwardoyo, M.Sc. dan Dra. Setiorini, M.Kes. selaku Koordinator Seminar;
5. Dr.rer.nat. Mufti P. Patria, M.Sc. selaku Ketua Departemen Biologi FMIPA UI, Dra. Nining Betawati Prihantini, M.Sc. selaku Sekretaris Departemen, Dra. Titi Soedjiarti, S.U. selaku Koordinator Pendidikan, dan segenap staf pengajar atas ilmu pengetahuan yang telah diberikan kepada Penulis selama menempuh pendidikan di Biologi;
6. Ahmad Supriyadi, S.Pi., Asri Martini, S.Si., Ir. Rusmalina, Ibu Ida, Pak Taryana, Pak Taryono, Mas Arif, Mas Dedi, dan seluruh karyawan Departemen Biologi FMIPA UI, atas segala bantuan yang telah diberikan;
7. Hibah Kompetitif Penelitian Strategis Nasional TA 2010 atas nama Wellyzar Sjamsuridzal, Ph.D, yang telah membiayai penulis selama melakukan penelitian;

8. Virgine, Estriningtyas, dan Ibu Retno atas bantuan dan semangat sebagai rekan tim penelitian ini, serta teman-teman Lab. Mikrobiologi Kak Dafina, Kak Novia, Kak Irvan, RED (Fahreza, Dachniar), LUNA (Galuh, Doni, Bama), KIREI (Kenardo, Imora, Rendy, Kirana), CITRUS (Chiki, Sentot, Fathon, Rusli), DEMON (Desi, Edvan, Michelle, Omen, Alvin), DIVAS (Dila, Hanum, Savitry, Seyla), CANNON (Grand, Odit, Okta, Rere, Chir), Mbak Reno, dan Mbak Dahlia atas dukungan dan bantuan selama penelitian ini dilakukan;
9. Sahabat terbaik Tiara Dewi, Akram murijal, Shafar Nur Azis, Faiz, Nestiyanto, Nurhasan, Febrial, Gita, dan seluruh teman-teman BLOSSOM atas semua dukungan, semangat, perhatian, waktu, pengalaman, dan persaudaraan yang telah diberikan kepada Penulis selama pendidikan di Biologi FMIPA UI;
10. Kedua orang tua tersayang Eko Purnomo dan Yeni Lovia, adik-adik tercinta Citra Annisa Adi Luhur Maremy, Tri Buana Tirta Adi Luhur, dan Fatwa Ashrima Adi Luhur yang telah memberikan kasih sayang yang tak terhingga kepada penulis, serta dukungan moril, materil, semangat, doa, dan segala pengorbanan hingga penulis dapat menyelesaikan riset dan pembuatan skripsi ini.

Penulis memohon maaf jika terdapat kesalahan dan kekhilafan. Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari sempurna, kritik dan saran demi peningkatan kualitas di masa depan sangat diharapkan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi para perkembangan ilmu pengetahuan.

Depok, Juni 2012

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Bregas Adi Luhur
NPM : 0706263725
Program Studi : Biologi S1 Reguler
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demikian pengembalian ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Pembuatan dan Pemberian *Pollen Substitute* Menggunakan *Candida hawaiiiana* CR015 sebagai Pakan Tambahan *Apis cerana* (Fabricius).

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 28 Juni 2012
Yang menyatakan



(Bregas Adi Luhur)

ABSTRAK

Nama : Bregas Adi Luhur
Program studi : Biologi
Judul : Pembuatan dan Pemberian *Pollen Substitute*
Menggunakan *Candida hawaiiiana* CR015 sebagai Pakan
Tambahkan *Apis cerana* (Fabricius).

Penelitian bertujuan untuk membuat *pollen substitute* (PS) yang disukai dan dapat meningkatkan produktivitas lebah madu *Apis cerana*. Bahan dasar yang digunakan sebagai komponen PS adalah tepung kedelai rendah lemak dan susu skim. Tiga macam *pollen substitute* yang dibuat adalah PSA (terdiri dari bahan dasar; *Candida hawaiiiana* CR015; madu), PSB (terdiri dari bahan dasar; sirup gula 50%), dan PSC (terdiri dari bahan dasar; madu). Setiap jenis *pollen substitute* diberikan kepada tiga koloni lebah madu selama 20 hari, sedangkan koloni kontrol tidak diberi *pollen substitute*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa PSA (rata-rata tingkat konsumsi 55,59 % per hari) yang paling disukai oleh lebah madu *Apis cerana*, selanjutnya PSC (rata-rata tingkat konsumsi 50,39 % per hari) dan PSB (rata-rata tingkat konsumsi 34,26 % per hari). Pemberian semua jenis *pollen substitute* meningkatkan produktivitas *honey comb* dengan penambahan keliling (0,39--2,28 % per hari) *honey comb*. Koloni kontrol juga mengalami penambahan keliling *honey comb* (0,19--0,26 % per hari) akan tetapi tidak mengalami penambahan jumlah *honey comb*.

Kata kunci: *Apis cerana*, *Candida hawaiiiana* CR015, lebah madu, *pollen substitute*.

xiii + 61 halaman ; 11 gambar; 4 tabel; 7 lampiran.
Bibliografi : 65 (1957-2011).

ABSTRACT

Name : Bregas Adi Luhur
Study Program : Biology
Title : Making of Pollen Substitute Using *Candida hawaiiiana* CR015 and Its Application as a Feed Supplement for *Apis cerana* (Fabricius).

The research aimed to make pollen substitute (PS) preferred by and increase the productivity of *Apis cerana* honeybee. Basic ingredients of pollen substitute were low-fat soy flour and skim milk. Three types of pollen substitutes were made: PSA (base material; *Candida hawaiiiana* CR015; honey), PSB (base material; 50% sugar syrup), and PSC (base material; honey). Pollen substitutes were applied to three groups colonies (each group: three colonies) for 20 days and no application of pollen substitute to control colonies. The results showed that *Apis cerana* preferred PSA (the average of consumption rate 55.59 % per day) and PSC (the average of consumption rate 50.39 % per day) to PSB (the average of consumption rate 34.26 % per day). Provision of all types of pollen substitute improve productivity of honeybee with the addition of honey comb circumference (0.39--2.28% per day) and the number of honey comb. Circumference of honey comb in control colonies was increased (0.19--0.26% per day) but there was no increase in the number of honey comb.

Key words: *Apis cerana*, *Candida hawaiiiana* CR015, honey bee, pollen substitute.

xiii + 61 pages; 11 pictures; 4 tables; 7 attachment.
Bibliography ; 65 (1957-2011).

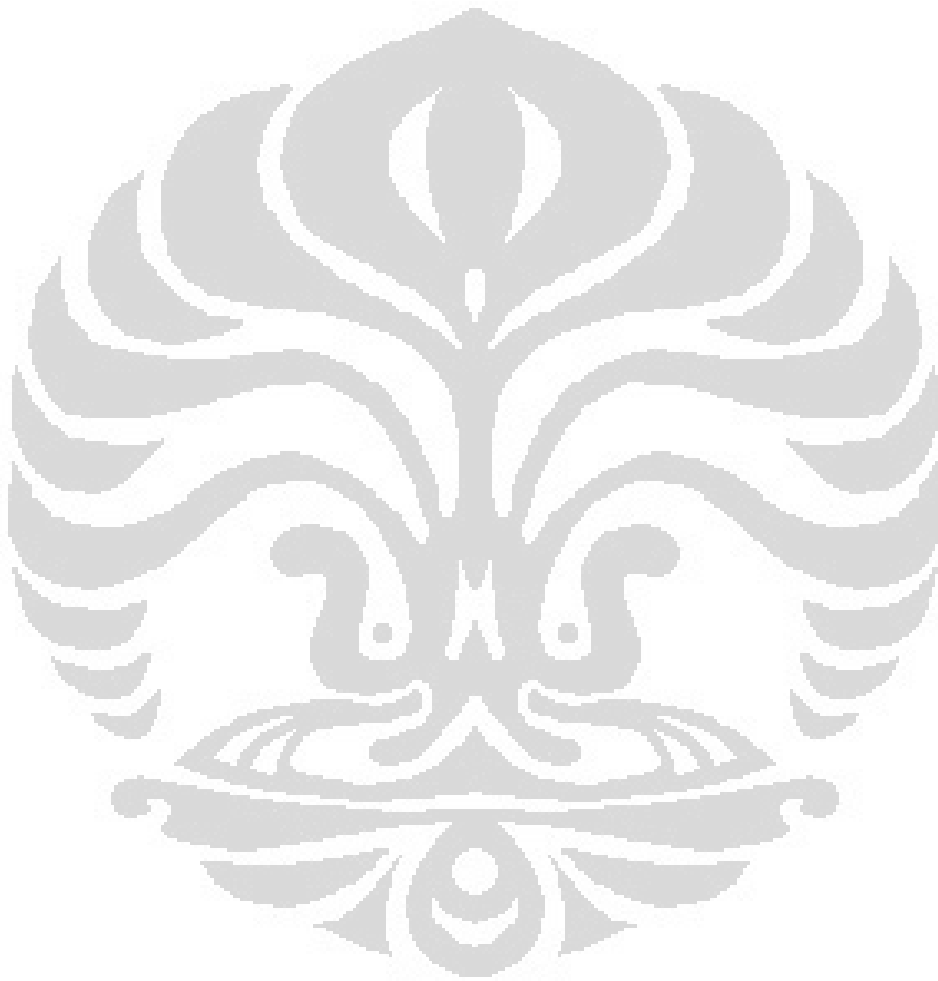
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI ILMIAH.....	vi
ABSTRAK.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
1. PENDAHULUAN.....	1
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Lebah Madu <i>Apis cerana</i> Fabr.....	6
2.1.1 Kebutuhan nutrisi lebah madu <i>Apis cerana</i>	8
2.1.2 Produktivitas lebah madu <i>Apis cerana</i>	9
2.2 Khamir.....	10
2.2.1 Karakteristik umum.....	10
2.2.2 Khamir yang berasosiasi dengan lebah madu.....	11
2.2.3 Khamir <i>Candida hawaiiiana</i> Lachance, Bowles, & Starmer.....	12
2.3 <i>Pollen Substitute</i>	13
2.3.1 Tepung kedelai.....	14
2.3.2 Biomassa kering khamir.....	15
2.3.3 Susu skim.....	16
3. METODE PENELITIAN.....	17
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	17
3.2 Alat dan Bahan.....	17
3.2.1 Alat.....	17
3.2.2 Bahan.....	18
3.2.2.1 Koloni lebah madu.....	18
3.2.2.2 Mikroorganisme.....	18
3.2.2.3 Medium.....	18
3.2.2.4 Bahan kimia.....	18
3.2.2.5 Bahan habis pakai.....	19
3.3 Cara kerja.....	19
3.3.1 Pembuatan medium.....	19
3.3.1.1 <i>Yeast Malt Agar</i> (YMA).....	19
3.3.1.2 <i>Yeast Malt Broth</i> (YMB).....	20
3.3.1.3 <i>Plate Count Agar</i> (PCA).....	20
3.3.1.4 <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA).....	20
3.3.2 Peremajaan biakan khamir <i>Candida hawaiiiana</i> CR015.....	20

3.3.3 Pemurnian biakan khamir <i>Candida hawaiiiana</i> CR015.....	21
3.3.4 Pembuatan <i>stock culture</i> dan <i>working culture</i>	21
3.3.5 Pengamatan morfologi makroskopik dan mikroskopik.....	22
3.3.6 Penghitungan jumlah sel dengan metode TPC.....	23
3.3.7 Pembuatan biomassa kering khamir.....	23
3.3.8 Pembuatan tepung kedelai rendah lemak.....	24
3.3.9 Pembuatan <i>pollen substitute</i>	25
3.3.10 Analisis kimia kandungan <i>pollen substitute</i>	25
3.3.11 Penyiapan koloni lebah madu <i>Apis cerana</i>	26
3.3.12 Pemberian <i>pollen substitute</i>	26
3.3.13 Pengambilan dan analisis data.....	28
3.3.13.1 Konsumsi <i>pollen substitute</i>	28
3.3.13.2 Jumlah <i>honey comb</i>	29
3.3.13.3 Keliling <i>honey comb</i>	29
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
4.1 Pengamatan karakter khamir <i>Candida hawaiiiana</i> CR015.....	30
4.2 Penghitungan jumlah sel khamir <i>C. hawaiiiana</i> CR015 menggunakan metode <i>Total Plate Count</i> (TPC).....	31
4.3 <i>Pollen substitute</i>	32
4.3.1 Pembuatan biomassa kering khamir <i>C. hawaiiiana</i> CR015.....	32
4.3.2 Pembuatan tepung kedelai rendah lemak.....	33
4.3.3 Analisis kandungan nutrisi <i>pollen substitute</i>	34
4.4 Tingkat konsumsi <i>pollen substitute</i>	37
4.5 Tingkat produktivitas lebah madu <i>Apis cerana</i>	40
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	43
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran.....	43
DAFTAR REFERENSI.....	44

DAFTAR TABEL

Tabel 4.2.	Hasil penghitungan sel khamir pada inokulum pembuatan biomassa khamir.....	32
Tabel 4.3.2	Perbandingan kandungan kimia tepung kedelai sebelum dan setelah ekstraksi lemak dengan heksan.....	33
Tabel 4.3.3	Perbandingan hasil analisis kandungan PSA dengan PSB dan PSC.....	35
Tabel 4.5	Penambahan jumlah dan keliling <i>honey comb</i>	41



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Kelenjar pada tubuh lebah madu pekerja.....	7
Gambar 2.1.1	Lebah pekerja <i>Apis cerana</i> pengumpul serbuk sari.....	9
Gambar 2.1.2	Produk lebah madu <i>Apis cerana</i>	10
Gambar 3.3.3	Metode <i>quadrant streak</i> untuk pemurnian biakan khamir.....	21
Gambar 3.3.8	Pembuatan tepung kedelai rendah lemak.....	25
Gambar 3.3.11	Koloni lebah madu <i>Apis cerana</i> yang digunakan di apiari desa Cikurutug, Ciburial, Bandung.....	26
Gambar 3.3.12	Pemberian <i>pollen substitute</i>	28
Gambar 4.1	Hasil pengamatan morfologi <i>Candida hawaiiiana</i> CR015.....	30
Gambar 4.3.2	Perbedaan warna tepung kedelai sebelum (a) dan sesudah (b) ekstraksi dengan heksan.....	33
Gambar 4.4	Perbandingan tingkat konsumsi PSA, PSB, dan PSC berdasarkan kategori kesukaan terhadap jenis <i>pollen</i> <i>substitute</i>	37
Gambar 4.5	Penambahan <i>honey comb</i> baru pada koloni lebah madu <i>Apis</i> <i>cerana</i>	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Tingkat konsumsi lebah madu <i>A. cerana</i> terhadap PSA (tepung kedelai + susu skim + biomassa khamir <i>C. hawaiiiana</i> CR015 + madu asli).....	50
Lampiran 2	Tingkat konsumsi lebah madu <i>A. cerana</i> terhadap PSB (tepung kedelai + susu skim + sirup gula 50 %).....	52
Lampiran 3	Tingkat konsumsi lebah madu <i>A. cerana</i> terhadap PSC (tepung kedelai + susu skim + madu asli).....	54
Lampiran 4	Pengamatan cuaca, suhu, dan kelembapan dari tanggal 9--29 A 2011.....	56
Lampiran 5	Hasil analisis statistik dengan uji Anova dan uji Tukey menggunakan SPSS 16.....	57
Lampiran 6	Skema kerja penelitian.....	60
Lampiran 7	(a). Skema pembuatan biomassa khamir <i>C. hawaiiiana</i> CR015 dan (b). Skema pembuatan pasta <i>pollen substitute</i>	61



BAB 1

PENDAHULUAN

Lebah madu sebagai sumber daya genetik ternak berpotensi besar dalam menghasilkan madu, royal jeli, *pollen*, propolis dan lilin (Liferdi 2008: 1). Lebah madu membutuhkan protein, karbohidrat, lemak, dan air untuk pertumbuhan, dan perkembangan koloni, reproduksi, dan menghasilkan produk-produk lebah tersebut di atas (Herbert dkk. 1977: 141). Bunga menyediakan kebutuhan nutrisi bagi lebah madu, yaitu berupa serbuk sari dan nektar.

Nektar (madu bunga) adalah hasil sekresi kelenjar madu pada bunga yang merupakan sumber energi bagi lebah madu karena mengandung sukrosa, heksosa, dan fruktosa yang banyak (Herrera dkk. 2006: 575). Nektar juga mengandung elemen mikro seperti mineral, vitamin, pigmen, senyawa aromatik, asam organik dan senyawa nitrogen (Somerville 2000: 1). Serbuk sari (*pollen*) adalah sumber protein utama bagi lebah madu. Serbuk sari juga merupakan sumber lemak, vitamin, dan mineral bagi lebah madu (Gilliam 1979: 43). Kandungan protein pada serbuk sari berbeda-beda, yaitu berkisar antara 7--40 % (El-Wahab & Gomaa 2005: 386). Lebah madu membutuhkan kandungan protein sebanyak 20% perhari dari serbuk sari yang dikumpulkan (Pirk dkk. 2010: 62). Oleh karena itu, lebah madu harus mengumpulkan nektar dan serbuk sari dari satu bunga ke bunga lainnya yang berbeda di alam (Oldroyd & Wongsiri 2006: 233).

Selain nektar dan serbuk sari, lebah madu juga mengumpulkan air dan propolis untuk mempertahankan koloninya. Air berguna untuk mempertahankan suhu dan kelembapan sarang serta mencairkan madu untuk dikonsumsi (Somerville 2000: 1). Propolis merupakan zat resin yang dikumpulkan lebah dari berbagai tanaman sebagai bahan perekat sarang dan juga sebagai antibiotik bagi lebah madu (Simone-Finstrom & Spivak 2010: 296).

Kekayaan alam Indonesia dalam keanekaragaman jenis tumbuhan berbunga (*Angiospermae*) yang menghasilkan nektar sangat mendukung usaha budidaya lebah madu (Liferdi 2008: 1). Akan tetapi, fenomena perubahan iklim yang terjadi saat ini menyebabkan perubahan pada siklus perbungaan sehingga ketersediaan nektar dan serbuk sari menjadi tidak menentu. Kurangnya

ketersediaan serbuk sari dan nektar sangat berpengaruh pada pertumbuhan dan perkembangan koloni. Koloni lebah madu yang mengalami defisiensi nutrisi akan mengalami gangguan perkembangan larva, berkurangnya bobot lebah dewasa, gangguan perkembangan kelenjar hipofaringeal, menurunnya usia hidup, jumlah anakan, jumlah koloni (Zahra & Talal 2008: 5), dan dapat menyebabkan *colony collapse disorder* (CCD) (De Jong dkk. 2009: 35;), serta minggatnya koloni (*abscond*) (Pokhrel dkk. 2006: 83). Berkurangnya jumlah koloni menyebabkan berkurangnya produksi madu (Haydak 1957: 90).

Pemberian protein secara artifisial pada lebah madu dapat berupa *pollen substitute* dan *pollen supplement*. *Pollen substitute* merupakan pakan pengganti serbuk sari yang dibuat dengan kandungan nutrisi yang hampir serupa dengan serbuk sari alami (Haydak 1967: 2), sedangkan *pollen supplement* memiliki komposisi yang hampir sama dengan *pollen substitute*, namun ditambahkan serbuk sari alami yang dikumpulkan peternak lebah madu dan dicampurkan dengan bahan-bahan lainnya (Haydak 1967: 2). Menurut Haydak (1957: 90) komposisi *pollen substitute* berupa tepung kedelai rendah lemak, khamir, dan susu skim rendah lemak dapat memenuhi kebutuhan protein bagi lebah madu. Penggunaan tepung kedelai untuk *pollen substitute* telah lama digunakan secara tradisional oleh masyarakat karena kandungan protein yang tinggi (hingga 50 %) dengan harga yang relatif murah dan mudah diperoleh (Kuntadi 2008: 369). Namun demikian, tepung kedelai mengandung kadar lemak yang cukup tinggi (hingga 15%) dan perlu dikurangi kadar lemaknya hingga di bawah 7 % supaya tidak bersifat racun bagi lebah madu (Somerville 2000: 6). Menurut Manning (2008: 73) kadar lemak yang tinggi dapat menyebabkan penurunan usia hidup, gangguan perkembangan kelenjar hipofaringeal, dan peningkatan berat kepala pada lebah madu.

Menurut Kuntadi (2008: 368) biji kedelai memiliki senyawa *trypsin inhibitor* yang menyebabkan proses pencernaan jadi tidak berfungsi. Menurut Muchtadi ((1993) lihat Djati 2009: 14) senyawa *trypsin inhibitor* dapat membentuk ikatan dengan enzim tripsin yang menyebabkan interaksi antara protein dengan protein hingga terputusnya ikatan arginin dengan isoleusin. Hal tersebut mempersulit pelepasan asam-asam amino dari ikatan protein sehingga

tidak dapat diserap. Menurut Black (2006: 38) diperlukan proses perebusan terlebih dahulu untuk menon-aktifkan senyawa *trypsin inhibitor* tersebut.

Penambahan khamir dan susu skim berguna untuk melengkapi kebutuhan nutrisi bagi lebah madu. Sel khamir memiliki kandungan protein yang tinggi, vitamin B, dan mineral (Bekatorou dkk. 2006: 409). Sel khamir juga dapat menghasilkan aroma, rasa, warna, dan antioksidan (Abbas 2006: 286).

Kandungan asam amino pada sel khamir melengkapi kebutuhan asam amino yang tidak tersedia pada tepung kedelai yaitu triptofan (Somerville 2000: 6). Vitamin B berguna dalam perkembangan kelenjar hipofaringeal pada lebah madu (Black 2006: 35). Kelenjar hipofaringeal berperan dalam membentuk dan mensekresi royal jeli sebagai makanan larva dan lebah ratu (Zahra & Talal 2008: 5).

Komposisi *pollen substitute* dilengkapi dengan susu skim untuk mencukupi kebutuhan protein bagi lebah madu (Haydak 1957: 1). Susu skim mengandung kasein yang berperan dalam meningkatkan pertumbuhan larva dan pendewasaan lebah pekerja (Black 2006: 21).

Penelitian mengenai pembuatan *pollen substitute* telah banyak dilakukan dalam beberapa puluh tahun yang lalu. Pemberian *pollen substitute* umumnya dilakukan di negara yang mengalami empat musim untuk mempertahankan koloni lebah madu selama musim dingin, yaitu pada saat tidak terdapat bunga sama sekali. Akan tetapi, di Indonesia pemberian *pollen substitute* tidak dilakukan peternak karena *pollen substitute* impor harganya mahal, sedangkan produk lokal tidak tersedia.

Krisnawati (2003: 10--20) melaporkan pemberian *pollen supplement* dengan kandungan tepung kedelai, tepung biji randu, bekatul, serbuk sari jagung, ragi dan sirup gula pada lebah madu *A. cerana*. Penelitian tersebut menunjukkan adanya penurunan bobot koloni dan jumlah larva yang lebih besar dibandingkan dengan kontrol yang tidak diberikan perlakuan. Agustina (2008: 70) melaporkan *pollen substitute* yang dibuat dari kacang hijau, kacang kedelai, dan kacang merah dengan penambahan vitamin B kompleks pada lebah madu *A. mellifera*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan tidak ada pengaruh yang signifikan terhadap produktivitas lebah madu.

Kuntadi (2008: 372--378) melaporkan pemberian *pollen substitute* pada lebah madu *A. mellifera* dengan menggunakan kedelai saja yang diolah secara berbeda-beda. Penelitian tersebut tidak menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan pemberian *pollen substitute* terhadap jumlah kematian anakan, bobot lebah, kadar protein, bobot populasi koloni dan tingkat kesukaan lebah madu terhadap pakan yang diberikan. Haydak (1967: 4) melaporkan pemberian *pollen substitute* dengan perbandingan komposisi tepung kedelai, susu skim dan khamir *brewer yeast* berturut-turut yaitu 3:1:1 pada *A. mellifera*. Pemberian *pollen substitute* dengan komposisi yang sama terhadap lebah madu *A. cerana* belum pernah dilaporkan, termasuk di Indonesia. Pada penelitian ini akan dilakukan pemberian *pollen substitute* dengan komposisi tepung kedelai, susu skim, dan khamir terhadap lebah madu *A. cerana*.

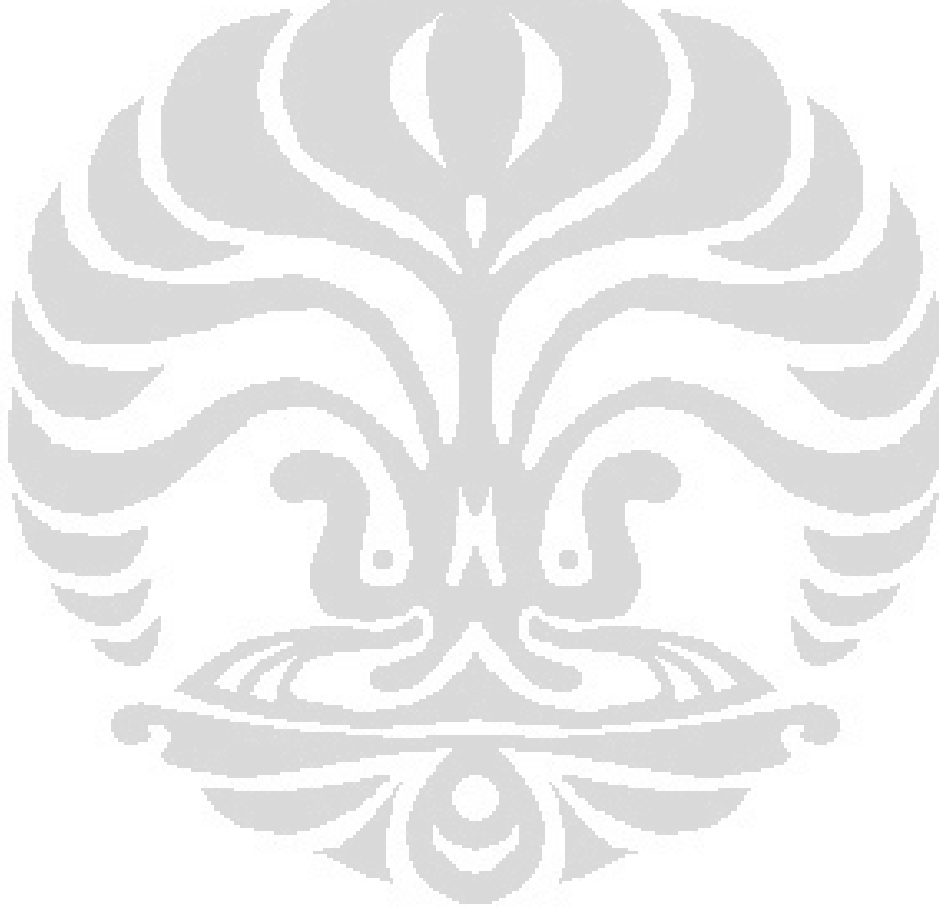
Pembuatan *pollen substitute* dalam penelitian ini menggunakan khamir indigenos *Candida hawaiiiana* Lachance dkk. (2003: 99) koleksi *University of Indonesia Culture Collection* (UICC). Khamir *C. hawaiiiana* CR015 ditemukan oleh Basukriadi dkk. pada tahun 2009 dari benang sari bunga Kecubung Gunung (*Brugmansia suaveolens* L.) yang merupakan bunga yang sering dikunjungi oleh lebah madu *A. cerana* pada apiari di desa Ciburial, Bandung.

Penggunaan khamir indigenos sebagai komposisi *pollen substitute* untuk melengkapi kebutuhan asam amino esensial bagi lebah madu dan diharapkan lebah madu telah mengenali khamir tersebut. Pada penelitian dibuat tiga variasi *pollen substitute*, yaitu campuran bahan dasar (tepung kedelai rendah lemak dan susu skim) dengan khamir *C. hawaiiiana* CR015 dan madu asli sebagai *pollen substitute* A (PSA), campuran bahan dasar dengan sirup gula 50 % tanpa biomassa khamir sebagai *pollen substitute* B (PSB) dan campuran bahan dasar dengan madu asli dari *A. cerana* di apiari tersebut sebagai *pollen substitute* C (PSC).

Pembuatan dan pemberian *pollen substitute* dengan menggunakan khamir yang berasosiasi dengan lebah madu *A. cerana* juga belum pernah dilaporkan.

Penelitian ini bertujuan membuat *pollen substitute* yang disukai dan diharapkan dapat meningkatkan produktivitas lebah madu *A. cerana*. Indikator tingkat kesukaan lebah madu terhadap jenis pakan yang diberikan dilihat dari persentase konsumsi lebah madu. Produktivitas lebah madu *A. cerana* diukur

melalui penambahan jumlah dan keliling *honey comb*. Hipotesis penelitian ini adalah *pollen substitute* yang dibuat disukai dan dapat meningkatkan produktivitas lebah madu *Apis cerana*. *Pollen substitute* hasil dari penelitian ini diharapkan membantu peternak lebah madu *A. cerana* menyediakan sumber protein bagi lebah madu pada saat terjadi krisis serbuk sari yang berkepanjangan di alam. *Pollen substitute* yang dihasilkan diharapkan dapat diaplikasikan untuk mengurangi tingkat kerugian peternak lebah madu akibat menurunnya produktivitas lebah madu dan dapat mengatasi minggatnya koloni lebah madu yang dipelihara pada saat terjadi kelangkaan bunga di sekitarnya.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Lebah Madu *Apis cerana* Fabr.

Lebah madu *A. cerana* merupakan serangga sosial yang tidak dapat hidup sendiri tanpa koloninya. Lebah madu *Apis cerana* Fabr. tersebar luas pada daerah iklim dingin hingga tropis di benua Asia (Michener 2007: 831). Lebah madu *Apis cerana* umumnya membuat sarang di lubang kayu ataupun pada kotak-kotak yang sengaja dibuat manusia untuk dipelihara sehingga disebut dengan istilah *cavity-nesting bees* (Oldroyd & Wongsiri 2006: 29--30). *Apis cerana* disebut juga dengan nama *eastern honeybees* karena tersebar luas sepanjang bagian timur Asia (Engel 1999: 170).

Klasifikasi lebah madu *A. cerana* adalah sebagai berikut.

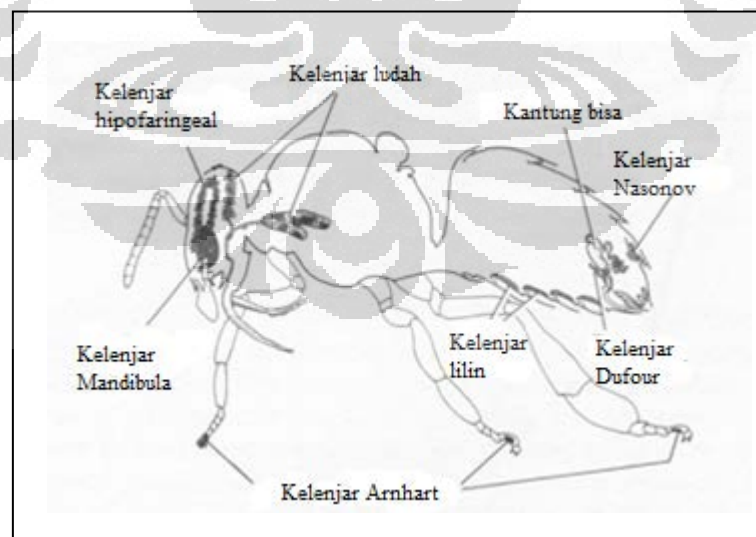
Kingdom : *Animalia*
Filum : *Arthropoda*
Kelas : *Insecta*
Bangsa : *Hymmenoptera*
Famili : *Apidae*
Subfamili : *Apinae*
Tribus : *Apini*
Marga : *Apis*
Jenis : *Apis cerana*

(Michener 2007: 80).

Lebah madu *Apis cerana* disebut sebagai *Asian honeybees* karena persebarannya yang sangat luas hingga hampir terdapat di seluruh Asia. Lebah madu *Apis cerana* diketahui memiliki beberapa subspecies, yaitu lebah madu *A. cerana indica* merupakan salah satu lebah madu Asia yang umum ditemukan di Asia bagian selatan hingga tenggara, *A. cerana cerana* umum ditemukan di Asia bagian utara, *A. cerana japonica* umum ditemukan di Jepang, *A. cerana himalaya* umum ditemukan di daerah pegunungan Himalaya (Smith dkk. 2000: 265), dan *A. cerana javana* yang tersebar di pulau Jawa hingga pulau Timor (Engel 1999: 179).

Koloni lebah madu *A. cerana* terdiri atas seekor lebah ratu (*queen*), lebah jantan (*drone*), dan lebah betina pekerja (*worker*). Lebah ratu memiliki ukuran tubuh yang sama dengan lebah jantan, tetapi memiliki abdomen yang lebih lonjong dan berbentuk seperti abdomen pada tawon. Lebah jantan berasal dari telur yang tidak dibuahi (partenogenesis) dan memiliki perbedaan morfologi dengan lebah pekerja pada ukuran tubuh dan mata yang lebih besar dan probosis yang lebih pendek. Lebah madu pekerja berasal dari telur yang dibuahi oleh lebah jantan, namun bersifat steril (tidak dapat menghasilkan keturunan). Lebah madu pekerja berperan dalam mencari dan mengumpulkan makanan bagi koloninya. Lebah madu pekerja mengumpulkan nektar dan serbuk sari dari bunga-bunga yang ada di sekitar sarangnya (Oldroyd & Wongsiri 2006: 4--7).

Lebah pekerja memiliki kelenjar hipofaringeal yang sangat berkembang pada lebah dewasa menghasilkan enzim untuk mengubah serbuk sari menjadi *bee bread* dan untuk menghasilkan royal jeli. *Bee bread* merupakan makanan bagi larva dan royal jeli adalah makanan bagi larva pekerja hingga umur 3 hari dan larva ratu. Lebah pekerja juga memiliki kelenjar lilin untuk menghasilkan *beeswax* yang dibentuk menjadi *honey comb* (Gambar 2.1). Ovarium pada lebah pekerja mengalami degenerasi dan berubah menjadi kelenjar bisa (sengat) (Oldroyd & Wongsiri 2006: 3--5).



Gambar 2.1. Kelenjar pada tubuh lebah madu pekerja.
[Sumber: Michener 2007: 830.]

2.1.1 Kebutuhan Nutrisi Lebah Madu *Apis cerana*

Lebah madu seperti hewan lainnya membutuhkan nutrisi berupa karbohidrat, protein, lemak, vitamin, dan mineral yang didapatkan dari alam (Saffari dkk. 2010: 63). Sumber karbohidrat alami diperoleh dari nektar yang dikumpulkan dan disimpan dalam *honey comb* sebagai madu. Madu memiliki kandungan gula rata-rata yaitu fruktosa (38 %), glukosa (31 %), gula disakarida dan trisakarida lainnya. Karbohidrat sangat dibutuhkan bagi lebah madu pekerja sebagai sumber energi untuk mengumpulkan nektar dan serbuk sari (Brodschneider & Crailsheim 2010: 280--281).

Protein berperan sebagai pembangun tubuh serangga khususnya lebah madu dewasa. Sekitar 66--74 % dari tubuh lebah dewasa merupakan protein, selain itu protein juga berpengaruh terhadap perkembangan kelenjar hipofaringeal pada lebah pekerja dan ovarium pada lebah ratu (Brodschneider & Crailsheim 2010: 283). Sumber protein alami bagi lebah madu di alam hanya dari serbuk sari (Gambar 2.1.1.) (Brodschneider & Crailsheim 2010: 282). Serbuk sari atau *pollen* merupakan organ kelamin jantan pada bunga (Somerville 2000: 6). Kandungan protein dalam serbuk sari berkisar 6--40 %. Serbuk sari juga mengandung karbohidrat, asam amino, lipid, vitamin, dan mineral (Somerville 2000: 2 & 5). Asam amino dalam serbuk sari antara lain sistein, histidin, triptofan, metionin, fenilalanin, arginin, isoleusin, leusin, lisin, valin, dan asam glutamat. Serbuk sari mengandung sembilan jenis vitamin serta hormon dan antibiotik (Caillas 1966: 1--2). Lebah madu membutuhkan protein (23--30 %) untuk pertumbuhan optimum koloninya, dan membutuhkan protein minimal 20 % setiap harinya untuk dapat mempertahankan koloninya (Herbert dkk. 1977: 142).

Lemak sangat dibutuhkan oleh lebah madu dengan jumlah yang lebih sedikit dibandingkan protein dan karbohidrat. Lebah madu mendapatkan lemak dari serbuk sari. Kandungan lemak pada serbuk sari bervariasi dari 0,8--18,9 %. Menurut Black (2006: 32) lemak berperan dalam metabolisme selama masa larva hingga pupa, sebagai sumber energi, membentuk fosfolipid untuk membrane sel, membentuk prekursor untuk proses biosintesis dan bersifat antimikroba.

Vitamin dan mineral merupakan mikronutrien yang dibutuhkan lebah madu. Vitamin dan mineral diperoleh dari nektar, serbuk sari dan air. Kebutuhan lebah madu akan vitamin dan mineral sangat sedikit, namun kecukupan kebutuhan nutrisi tersebut sangat memengaruhi dalam proses pemeliharaan larva dan pupa (Brodschneider & Crailsheim 2010: 286--287).



Gambar 2.1.1. Lebah pekerja *Apis cerana* pengumpul serbuk sari.
[Sumber : Dokumentasi pribadi.]

2.1.2 Produktivitas Lebah Madu *Apis cerana*

Lebah madu *A. cerana* menghasilkan madu, lilin (*beeswax*), royal jeli, dan propolis (Bogdanov 2007: 63--67). Madu dan royal jeli merupakan produk utama dalam peternakan lebah madu. Kebutuhan madu Indonesia selama ini dipenuhi oleh madu yang berasal dari lebah madu *A. mellifera*, *A. cerana*, dan *A. dorsata* (Adalina 2008: 218). Royal jeli diproduksi oleh lebah pekerja dan merupakan makanan utama bagi larva calon ratu lebah (Caillas 1966: 2).



Gambar 2.1.2. Produk lebah madu *Apis cerana*.
[Sumber: Sjamsuridzal dkk. 2010:24.]

Lilin merupakan hasil sekresi kelenjar lilin pada lebah pekerja untuk membentuk sarang (*honey comb*) (Gambar 2.1.2). Kelenjar lilin terletak di bagian ventral abdomen pada segmen ke empat hingga ke tujuh (Sanford & Dietz 1976:197). Lilin tersusun atas campuran hidrokarbon (ester), asam lemak, dan protein (lipophorin) (Casier & Lensky 1995: 24). Lilin telah lama digunakan oleh manusia sebagai bahan kosmetik, pewarna, furnitur, dan makanan (Mutsaers 2005: 45--46). Lebah madu, selain menghasilkan produk yang bermanfaat bagi manusia, juga memiliki peran penting dalam ekosistem, yaitu sebagai polinator alami berbagai macam jenis tanaman berbunga (Liferdi 2008: 1).

2.2 Khamir

2.2.1 Karakteristik Umum

Khamir merupakan fungi uniseluler yang bereproduksi secara aseksual dengan tunas (*budding*), pembelahan (*fission*) (Walker 1998: 1), konidia bertangkai pendek (*sterigmata*), kladospora (Deak 2008: 2) dan balistokonidia (Walker & White 2005: 29). Reproduksi seksual pada khamir tidak menghasilkan badan buah (*fruiting bodies*) melainkan menghasilkan spora seksual yang disebut askospora pada kelompok *Ascomycetes* dan basidiospora pada kelompok *Basidiomycetes* (Gandjar dkk. 2006: 79 & 84).

Ukuran sel khamir lebih besar dibandingkan dengan sel bakteri yaitu sekitar 5--10 kali ukuran sel bakteri (Cappuccino & Sherman 2002: 217). Ukuran sel khamir memiliki kisaran panjang 20-50 μm dan lebar sekitar 1--10 μm . Khamir umumnya terdiri atas satu sel, akan tetapi beberapa khamir dapat berbentuk filamen atau hifa (*mycelium-state*) dan sel tunggal (*yeast-state*). Khamir yang memiliki sifat demikian disebut fungi dimorfik atau *yeast-like fungi* (Walker & White 2005: 3). Bentuk hifa dari khamir dapat berupa hifa sejati (*true hyphae*) ataupun hifa palsu (*pseudohyphae*) (Deak 2008: 3).

Bentuk sel khamir bermacam-macam, antara lain bulat (*spherical*), melengkung (*curved*), triangular, elips (*ellipsoidal*), silindris (*cyllindrical*), lemon (*lemon shape*), dan bentuk botol (*flask shape*) (Walker & White 2005: 5). Komponen utama penyusun dinding sel khamir adalah β (1-3) glukukan yang memberi bentuk pada sel khamir. Bagian terluar dinding sel merupakan senyawa α (1-6) manan. Kitin dapat ditemukan pada bagian septum primer dan luka (*scar*) pertunasan khamir. Bagian dalam dinding sel terdapat lipid yang berfungsi mencegah kekeringan (Walker & White 2005: 6).

2.2.2 Khamir yang Berasosiasi dengan Lebah Madu

Hubungan antara khamir dan lebah madu telah banyak diteliti (Gilliam 1979: 48; Hiyon 1970: 44; Sandhu & Waraich 1985: 51). Basukriadi dkk. (2010: 47) melaporkan beberapa jenis khamir memiliki hubungan asosiasi dengan lebah madu *A. cerana* dan bunga yang dikunjunginya antara lain *Candida* cf. *apicola*, *C. cf. azyma*, dan *C. cellae*. Khamir-khamir tersebut diisolasi dari saluran pencernaan lebah madu *A. cerana* liar (*wild*) yang mengunjungi bunga *Jatropha integerrima*. Menurut Vega dkk. (2009: 798), adanya variasi keberadaan khamir pada bunga menyebabkan perubahan karakteristik nektar, sehingga menentukan tipe polinator bunga tersebut, dalam hal ini adalah serangga.

Hubungan asosiasi antara khamir dan serangga dapat berupa ektosimbiotik jika khamir ditemukan pada permukaan eksoskeleton dan dalam saluran pencernaan serangga, dan endosimbiotik jika khamir ditemukan dalam jaringan tubuh serangga. Khamir di dalam tubuh lebah madu berperan sebagai

penyuplai vitamin dan sumber asam amino esensial, serta berperan dalam proses detoksifikasi (Zacchi & Vaughan-Martini 2002: 237). Lebah madu merupakan vektor penyebaran bagi khamir karena secara tidak langsung terjadi transfer khamir pada saat setiap lebah berpindah dari satu bunga ke bunga lainnya (Sandhu & Waraich 1985: 51).

Jenis khamir yang berasosiasi dengan lebah madu merupakan jenis khamir osmotoleran ataupun osmofilik (Hiyon 1970: 44). Munitis dkk. (1976: 322) melaporkan bahwa terdapat jenis khamir seperti *Saccharomyces rouxii* Boutroux, *S. bailii* var. *osmophilus*, dan *S. bisporus* var. *mellis* yang bersifat osmofilik obligat. Jenis khamir seperti *Debaryomyces hansenii*, *D. maramus*, *M. pulcherrima*, *C. rancensis*, dan *Zygosaccharomyces rouxii* merupakan jenis khamir osmotoleran. Khamir hidup di dalam saluran pencernaan lebah dan dijadikan sebagai nutrisi bagi lebah. Khamir juga berperan dalam pembuatan *bee bread* yang berasal dari serbuk sari yang dikumpulkan oleh lebah pekerja (Ganter 2006: 340--341). Khamir yang berasal dari nektar bunga dan terbawa oleh lebah madu juga berperan dalam pembuatan madu dengan menghasilkan enzim invertase yang merubah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (Kathiresan & Srinivasan 2005: 665).

2.2.3 Khamir *Candida hawaiiiana* Lachance, Bowles & Starmer

Khamir jenis *Candida hawaiiiana* ditemukan pada bunga *Ipomoea indica* dan serangga yang berasosiasi dengan bunga tersebut (Lachance dkk. 2003: 97). *Candida hawaiiiana* termasuk ke dalam filum *Ascomycota*. Sel khamir *C. hawaiiiana* berbentuk *spheroid* hingga *ovoid*, tersusun atas satu sel tunggal atau berpasangan dengan menempel pada *mother cell* pada medium *yeast extract* 0,5 % *glucose* 2 % *broth* berumur 3 hari pada suhu 25 °C. Ukuran sel berkisar antara 3--4 µm x 4--6 µm. Pada medium *glucose yeast agar* tidak terbentuk miselium ataupun pseudohifa setelah inkubasi selama 2 minggu. Pada medium *malt agar* dengan inkubasi 17° C selama 2 minggu koloni memiliki profil cembung, mengilap, permukaan halus berwarna putih dan bertekstur *butyrous*. Khamir *C. hawaiiiana* bersifat fermentatif (Lachance dkk. 2003: 99). Sel khamir

C. hawaiiiana dapat tumbuh pada suhu maksimal 32° C (Lachance dkk. 2003: 109) dan masih dapat tumbuh dengan lambat pada suhu 4° C (Lachance dkk. 2003: 100).

Candida hawaiiiana diisolasi oleh Basukriadi dkk. pada tahun 2009 dari benang sari bunga Kecubung Gunung (*Brugmansia suaveolens* L.), serbuk sari dan putik Kaliandra (*Calliandra haematocephala*), serbuk sari Putri Malu (*Mimosa pudica*) di peternakan lebah madu (apiari) desa Ciburial, Bandung dan serbuk sari dari tanaman *Jatropha integerrima* di kampus UI Depok (Basukriadi dkk. 2010: 44--48). Penggunaan khamir lokal yang telah diisolasi dari bunga yang dikunjunginya diduga akan disukai oleh lebah madu *A. cerana* sehingga dapat membantu meningkatkan produktivitas lebah madu.

2.3 Pollen Substitute

Pollen substitute (PS) merupakan makanan penting bagi lebah madu dan memiliki kandungan nutrisi yang hampir sama dengan *pollen* alami yang dibutuhkan oleh lebah madu *A. cerana* (Haydak 1967: 2). Beberapa bahan yang umum digunakan sebagai komponen dalam *pollen substitute* antara lain tepung kedelai, *canola flour*, khamir *Torula*, *brewer yeast*, *baker yeast*, tepung *skim milk*, kasein, vitamin, dan mineral (Somerville 2000: 6). Haydak (1967: 4) merekomendasikan komposisi *pollen substitute* yaitu tepung kedelai, khamir *brewer yeast*, dan susu skim dengan perbandingan 3:1:1. Menurut Haydak (1957: 90), kandungan protein dalam *pollen substitute* harus dapat memenuhi kebutuhan protein minimal lebah madu setiap harinya, yaitu sebesar 20%. Kandungan protein yang tinggi dari campuran tepung kedelai, susu skim, dan khamir dapat mencukupi kebutuhan protein bagi lebah madu. Akan tetapi, menurut Herbert (1977:142), kandungan protein dalam *pollen substitute* sebaiknya tidak lebih dari 50%, karena kelebihan protein yang tidak tercerna dapat terakumulasi dalam saluran pencernaan sehingga menurunkan usia hidup lebah pekerja. Lebah pekerja lebih membutuhkan karbohidrat sebagai sumber energi untuk mencari makanan dibandingkan kebutuhan protein.

Berdasarkan Somerville (2000: 6) dalam pembuatan *pollen substitute* perlu diperhatikan beberapa hal, yaitu:

- a. Menarik bagi lebah madu, *pollen substitute* memiliki warna, aroma, dan tekstur yang menarik bagi lebah madu.
- b. Bahan baku melimpah dan tersedia setiap saat.
- c. Modal dalam pembuatan *pollen substitute* tidak terlalu besar.
- d. Nilai kandungan gizi harus tinggi dan dapat memenuhi kebutuhan nutrisi lebah madu.
- e. Tidak mengandung komponen yang bersifat toksik.

Pollen substitute berguna sebagai pengganti makanan bagi lebah di saat kurangnya ketersediaan serbuk sari di alam (Somerville 2000: 6). Kecukupan jumlah nutrisi dalam *pollen substitute* dapat menstimulasi jumlah larva dan mempertahankan koloni dalam keadaan yang buruk seperti musim dingin (Grandi-Hoffman dkk 2008: 270). Zahra dan Talal (2008: 9) melaporkan bahwa pemberian *pollen substitute* dengan kandungan tepung kedelai, susu skim, vitamin C dan multivitamin dapat meningkatkan luas *honey comb* dan meningkatkan ukuran kelenjar hipofaringeal. *Pollen substitute* komersil (Feed-Bee dan Bee-Pro) terbukti dapat meningkatkan jumlah protein dalam hemolimfe (DeJong dkk. 2009: 36).

2.3.1 Tepung Kedelai

Tepung kedelai memiliki kandungan protein yang tinggi yaitu 41 % (Kuntadi 2008: 368). Tepung kedelai digunakan sebagai komponen *pollen substitute* karena harga biji kedelai yang relatif murah dan mudah didapatkan (Somerville 2000: 6). Akan tetapi, biji kedelai masih mengandung senyawa anti nutrisi, yaitu *trypsin inhibitor* yang dapat mengganggu proses pencernaan protein oleh lebah madu. Biji kedelai harus diolah terlebih dahulu dengan proses perebusan untuk menon-aktifkan senyawa anti nutrisi tersebut. Tepung kedelai yang dihasilkan juga mengandung lemak yang cukup tinggi (hingga 15 %), sehingga diperlukan proses ekstraksi lemak untuk menurunkan kadar lemak hingga

di bawah 7 %. Menurut Somerville (2000: 6) kadar lemak yang tinggi pada *pollen substitute* dapat bersifat racun bagi lebah madu.

2.3.2 Biomassa Kering Khamir

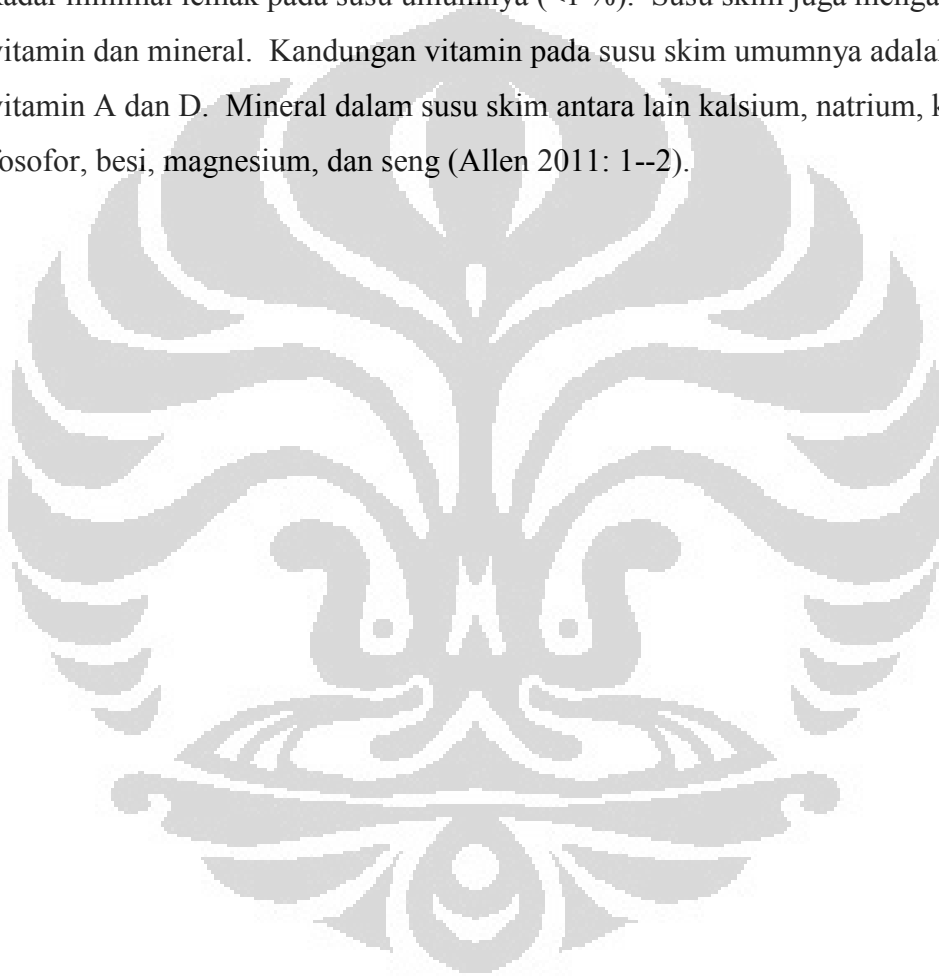
Biomassa merupakan jumlah materi biologi baik yang masih hidup ataupun sudah mati. Biomassa sel umumnya diproduksi untuk kebutuhan energi ataupun sebagai nutrisi dalam bentuk protein sel tunggal. Biomassa sel khamir terbentuk dari proses reproduksi aseksual sel khamir sehingga meningkatkan jumlah sel khamir (Bekatorou dkk. 2006: 408).

Penggunaan biomassa khamir sebagai komponen *pollen substitute* direkomendasikan oleh Haydak (1957:90) karena khamir memiliki kandungan nutrisi yang tinggi dan telah lama digunakan sebagai sumber protein sel tunggal (PST) baik bagi manusia atau hewan ternak. Jenis khamir yang umum digunakan sebagai komponen dalam *pollen substitute* antara lain *brewer yeast*, *baker yeast*, dan *Candida* atau *Torula yeast* (Somerville 2000: 6). El-Wahab dan Gomaa (2005: 386--390) dan Hammad dkk. (130--137) menggunakan khamir jenis *Candida tropicalis* sebagai bahan tunggal *pollen substitute*, sedangkan Rogala dan Szymas (2004: 29--36) menggunakan *Candida utilis* sebagai komponen untuk membuat *pollen substitute*.

Menurut Somerville (2000: 6) *Torula yeast* memiliki kandungan protein hingga 50 % dan lemak 7 % yang cocok sebagai komponen *pollen substitute*, dan begitu pula dengan *brewer* atau *baker yeast*. Namun demikian, kandungan asam amino pada *brewer* atau *baker yeast* lebih seimbang dibandingkan dengan *Torula yeast*. Menurut Bekatorou dkk. (2006: 410), sel khamir mengandung protein yang tinggi dan kaya akan asam amino terutama lisin, treonin, valin dan asam glutamat, selain itu juga terkandung mineral dan vitamin, terutama niasin, asam pantotenat, serta vitamin B.

2.3.3 Susu Skim

Susu skim merupakan bagian susu hasil pemisahan krim dan skim susu. Susu skim mengandung protein utama yaitu kasein dengan kadar 34--37 %. Asam amino esensial yang terkandung dalam susu skim antara lain isoleusin, leusin, lisin, metionin, dan fenilalanin. Karbohidrat dalam susu skim berupa laktosa dengan kadar 49,5--52 %. Kadar lemak susu skim sangat rendah yaitu di bawah kadar minimal lemak pada susu umumnya (<1 %). Susu skim juga mengandung vitamin dan mineral. Kandungan vitamin pada susu skim umumnya adalah vitamin A dan D. Mineral dalam susu skim antara lain kalsium, natrium, kalium, fosfor, besi, magnesium, dan seng (Allen 2011: 1--2).



BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Laboratorium *Center of Excellence for Indigenous Biological Resources-Genome Studies* (CoE IBR-GS) FMIPA UI, dan di peternakan lebah madu *A. cerana* di Desa Ciburial, Dago Pakar Utara, Bandung. Penelitian dilakukan selama 7 bulan mulai bulan November 2010 sampai Mei 2011.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah autoklaf [Hirayama], lemari pendingin [GASSIO], kompor listrik [Sanyo], oven [Heraeus], pemanas air [SHARP], timbangan digital [AND EW-300 G], vorteks [Bio-Rad dan Maxi Mix II Type 37600], mikropipet [Gilson], *tips*, mikroskop [Euromex], mikroskop binokuler [Carl ZEISS], mikroskop trinokular [Carl ZEISS], *water bath shaker incubator*, *shaker incubator*, tabung appendorf 45 ml, lemari pendingin [AMB-HI-LO], *Freeze dryer*, sentrifugator [International Clinical Centrifuge model CL], tabung *ependorf*, timbangan analitik, erlenmeyer 500 ml dan 1000 ml, *beaker glass*, gelas ukur, cawan petri, tabung reaksi, batang pengaduk, jarum tanam bulat (*ose*), botol alkohol, mortar, *object glass*, *cover glass*, pinset, pipet, spatel *drygalski*, pembakar spirtus, gunting, *blender* [SHARP] *transfer box*, penggaris, pita ukur, wadah tempat pakan lebah, dan kamera digital [Kodak].

3.2.2. Bahan

3.2.2.1 Koloni lebah madu

Koloni lebah madu yang digunakan dalam penelitian ini adalah koloni *A. cerana* di apiari desa Ciburial, Bandung. Koloni yang digunakan sebanyak 12 koloni untuk tiga perlakuan dan kontrol masing-masing dengan ukuran koloni yang relatif sama untuk setiap perlakuan.

3.2.2.2 Mikroorganisme

Mikroorganisme yang digunakan adalah biakan khamir *C. hawaiiiana* CR015 yang diisolasi oleh Basukriadi dkk. (2009) dari benang sari bunga Kecubung Gunung (*B. suaveolens*) yang sering dikunjungi oleh lebah madu *A. cerana* di apiari desa Ciburial, Bandung.

3.2.2.3 Medium

Medium yang digunakan adalah *Yeast Malt Extract Agar/Broth* (YMA/YMB), *Potato Dextrose Agar* (PDA), dan *Plate Count Agar* (PCA). Medium YMA digunakan sebagai medium pertumbuhan. YMB digunakan sebagai medium produksi biomassa khamir. PDA digunakan untuk medium pembuatan *stock culture* dan *working culture*. Medium PCA digunakan sebagai medium untuk penghitungan (enumerasi) sel khamir.

3.2.2.4 Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah *yeast extract*, *malt extract*, agar, *potato dextrose agar*, *plate count agar* [BD], glukosa, pepton [Liofilchem], tetrasiklin [Kimia Farma], *Cloramphenicol* [WAKO], akuades steril, alkohol 70 %, alkohol 90 %, aseton, eter, dan *Lactophenol cotton blue*.

3.2.2.5 Bahan habis pakai

Bahan habis pakai yang digunakan adalah parafilm [Pechiney], *wrapping plastic*, tepung kedelai, susu skim, gula pasir [Gulaku], madu lokal, tissue gulung, spirtus, kantong plastik klip, akuades kemasan [Aqua], batang kayu pengaduk, dan plastik tahan panas.

3.3 Cara Kerja

3.3.1 Pembuatan medium

3.3.1.1 *Yeast Extract Agar* (YMA)

Medium YMA dibuat berdasarkan Atlas (2010: 1934) yaitu dengan melarutkan 3 gram *Yeast Extract*, 3 gram *Malt Extract*, 5 gram pepton, dan 10 gram glukosa dalam 1 liter akuades. Medium dipanaskan hingga semua bahan terlarut. Medium kemudian disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit. Medium didinginkan lalu diberikan tetrasiklin sebanyak 250 g untuk setiap 500 ml medium sebelum membeku. Medium dituang secara aseptis kedalam cawan petri sebanyak 15--20 ml.

Untuk membuat medium YMA miring pada tabung reaksi, medium yang telah dipanaskan diberikan *chloramphenicol* sebanyak 0,2 g dalam 1 ml etanol absolut 96 %. Selanjutnya medium dimasukkan kedalam setiap tabung reaksi sebanyak 5 ml. Seluruh medium pada tabung reaksi dikemas dalam plastik tahan panas dan disterilisasi menggunakan autoklaf 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit. Tabung reaksi yang berisi medium YMA steril dimiringkan pada bidang miring dan dibiarkan hingga medium mengeras. Medium yang sudah mengeras dapat langsung disanakan atau disimpan dalam refrigerator pada suhu <4 °C.

3.3.1.2 *Yeast Extract Broth* (YMB)

Medium YMB dibuat berdasarkan Atlas (2010: 1934), yaitu dengan melarutkan 3 g *Yeast Extract*, 3 g *Malt Extract*, 5 g pepton, dan 10 g glukosa ke dalam 1 liter akuades. Medium dipanaskan hingga semua bahan terlarut. Medium kemudian disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

3.3.1.3 *Plate Count Agar* (PCA)

Medium PCA dibuat berdasarkan Atlas (2010: 1403), yaitu dengan melarutkan *Plate Count Agar* sebanyak 23,5 g kedalam 1 liter akuades. Medium kemudian dipanaskan hingga semua bahan terlarut. Medium disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan selama 15 menit. Medium yang sudah mencapai suhu 45--50 °C diberikan tetrasiklin sebanyak 250 g untuk setiap 500 ml medium. Medium dituang ke dalam cawan petri sebanyak 15--20 ml.

3.3.1.4 *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Medium PDA miring dibuat berdasarkan Atlas (2010: 1412), yaitu dengan mencampurkan ekstrak kentang sebanyak 200 ml, 20 g glukosa dan 20 g agar dipanaskan hingga semua bahan terlarut. Medium diberikan antibiotik *chloramphenicol* sebanyak 0,2 g dalam etanol 96 %. Medium dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 6 ml, atau dengan melarutkan 39 gram *Potato Dextrose Agar* dalam 1 liter akuades. Medium dipanaskan hingga semua bahan terlarut dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 6 ml hingga medium habis. Medium kemudian disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit. Medium dimiringkan dengan meletakkan di atas suatu bidang miring dengan kemiringan tertentu dan dibiarkan hingga mengeras.

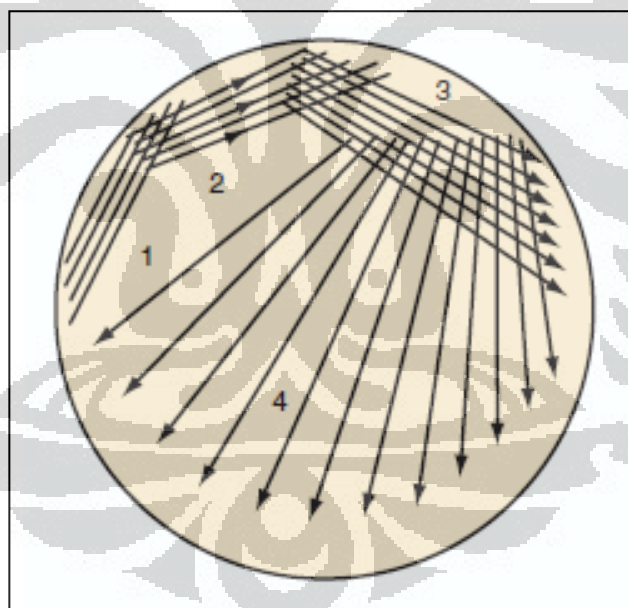
3.3.2 Peremajaan biakan *Candida hawaiiiana* CR015

Peremajaan biakan *Candida hawaiiiana* CR015 dilakukan dengan metode *four quadrant streak* berdasarkan Benson (2001: 85). Biakan stok dalam medium

gliserol 5 % + trehalosa 5 %, diteteskan sebanyak 0,1 ml di atas medium YMA pada cawan petri. Titik peneteskan digoreskan dengan jarum tanam bulat (ose) secara zig-zag dalam empat kuadran. Koloni yang terpisah diambil sebagai inokulum dalam proses pemurnian.

3.3.3 Pemurnian biakan *Candida hawaiiiana* CR015

Pemurnian biakan khamir dilakukan dengan metode *four quadrant streak* (Gambar 3.3.3) berdasarkan Benson (2001: 85). Proses pemurnian khamir dilakukan dengan mengambil koloni yang terpisah pada hasil penumbuhan biakan. Biakan *C. hawaiiiana* CR015 diinkubasi selama 2 hari pada suhu ruang. Proses pemurnian biakan dilakukan minimal 2 kali hingga terbentuk koloni terpisah. Koloni tunggal yang terbentuk dipindahkan ke medium PDA miring sebagai *stock culture* dan *working culture*.



Gambar 3.3.3. Metode *quadrant streak* untuk pemurnian biakan khamir. [Sumber: Benson 2001: 85].

3.3.4 Pembuatan *stock culture* dan *working culture*

Koloni sel khamir yang terpisah hasil dari pemurnian dipindahkan ke dalam dua tabung berisi medium PDA miring sebagai *stock culture* dan *working culture*. Pembuatan *stock culture* dilakukan dengan metode *streak* berdasarkan

Kurtzman dan Fell (1998: 78). Jarum tanam bulat yang berisi sel khamir digoreskan secara zig-zag pada medium PDA miring. *Stock culture* dan *working culture* kemudian diinkubasikan pada suhu ruang dengan kondisi gelap selama 2 hari supaya dapat tumbuh dengan baik. Biakan khamir yang telah tumbuh disimpan di dalam *refrigerator* pada suhu 4°C.

3.3.5 Pengamatan morfologi makroskopik dan mikroskopik

Pengamatan biakan khamir dilakukan meliputi pengamatan morfologi secara makroskopik dan mikroskopik berdasarkan Kurtzman dan Fell (1998: 80--81). Pengamatan morfologi secara makroskopik dilakukan pada medium padat dan cair. Pengamatan morfologi secara makroskopik pada medium padat dilakukan dengan menumbuhkan terlebih dahulu pada medium YMA pada cawan petri dengan metode *streak*. Koloni yang tumbuh terpisah diamati karakternya. Pengamatan morfologi secara makroskopik pada medium padat dilakukan dengan melihat karakter warna koloni, tekstur, profil koloni, tepi koloni, permukaan, dan aroma. Pengamatan morfologi secara makroskopik dalam pertumbuhan pada medium cair dilakukan dengan menumbuhkan biakan khamir pada medium YMB. Biakan khamir dari *working culture* diinokulasikan sebanyak satu ose ke dalam medium cair dan diinkubasi selama 3 hari dalam suhu ruang. Menurut Yarrow (1998: 81) pengamatan morfologi secara makroskopik dalam medium cair dilakukan dengan melihat karakter *ring*, *pelikel*, *islet*, dan endapan. Pengamatan morfologi secara mikroskopik dilakukan dengan membuat preparat dari medium cair. Biakan yang telah ditumbuhkan pada medium cair diletakkan pada gelas objek sebanyak 2 tetes lalu ditutup dengan *cover glass*. Bagian tepi *cover glass* dioleskan pemulas kuku. Pengamatan morfologi secara mikroskopik dilakukan dengan mengamati karakter pertunasan (*budding*), bentuk sel, ukuran sel, dan susunan sel. Pengambilan foto dan pengukuran panjang dan lebar sel khamir menggunakan mikroskop trinokular (Carl Zeiss) dengan bantuan program aplikasi *Infinity Analyze* dan *AxioVision rel 4.7*. Hasil pengamatan morfologi secara makroskopik dan mikroskopik dibandingkan dengan karakter koloni dan sel khamir *C. hawaiiiana* pada deskripsi spesies tersebut oleh Lachance dkk. (2003: 99).

3.3.6 Penghitungan jumlah sel dengan metode TPC

Penghitungan jumlah sel khamir dilakukan untuk mengetahui jumlah sel yang digunakan sebagai inokulum dalam proses fermentasi. Penghitungan jumlah sel khamir dilakukan dengan menggunakan metode *total plate count* berdasarkan Cappuccino dan Sherman (2002: 120--122). Biakan khamir dari *working culture* ditumbuhkan terlebih dahulu pada medium YMA miring. Biakan khamir diinokulasikan sebanyak 15 gores dan diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Biakan disuspensikan dalam 5 ml akuades steril dan dihomogenisasi dengan vortex. Suspensi sel khamir diencerkan hingga pengenceran 10^{-7} . Dalam setiap pengenceran, sebanyak 1 ml suspensi sel diinokulasikan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml akuades steril. Pada pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} diinokulasikan lagi sebanyak 0,1 ml ke cawan petri berisi medium PCA dan disebar dengan spatel *drygalsky* dengan 3 kali pengulangan, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Jumlah sel diukur dengan menghitung jumlah koloni yang terbentuk menggunakan rumus berdasarkan Gandjar (1992: 40):

$$\text{Jumlah CFU/ ml} = \frac{\text{jumlah koloni yang terbentuk}}{\text{volume inokulum} \times \text{faktor pengenceran}}$$

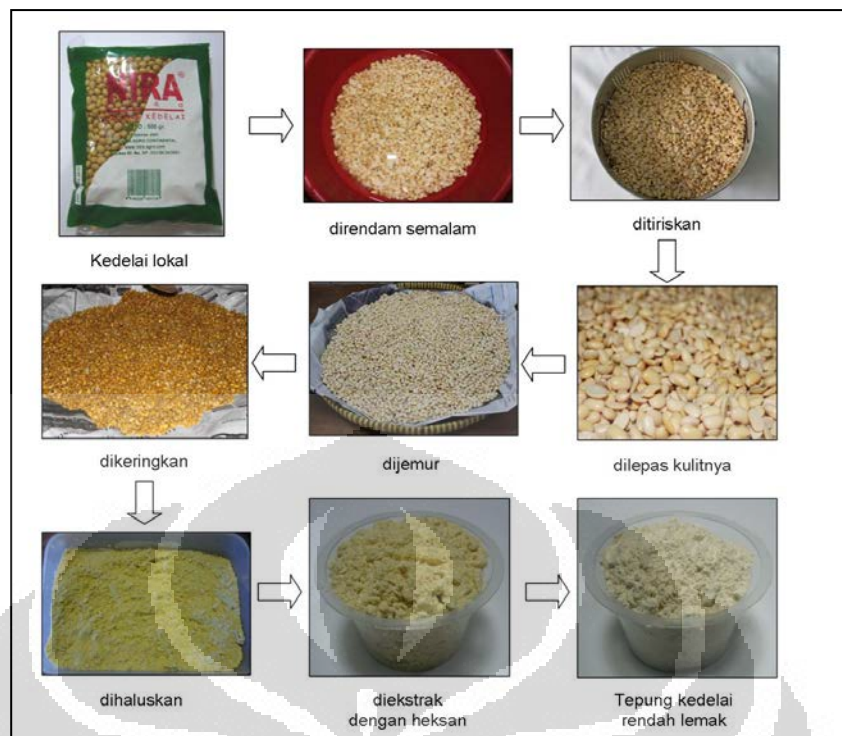
3.3.7 Pembuatan biomassa kering khamir

Pembuatan biomassa kering khamir dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu tahap fermentasi, pemanenan, dan pengeringan. Tahap fermentasi dilakukan dengan menggunakan metode *batch fermentation* (Lampiran 6.a) berdasarkan Cinar (2003: 24). Proses fermentasi dilakukan dengan membuat suspensi biakan *C. hawaiiiana* CR015 dalam 5 ml YMB dari medium YMA sebagai inokulum dan dimasukkan ke dalam 95 ml YMB pada erlenmeyer sebagai *starter*. *Starter* diinkubasi dalam *waterbath shaker incubator* pada suhu ruang ($\pm 30^{\circ}$ C) dengan kecepatan 120 rpm selama 2 hari. *Starter* dipindahkan ke dalam tabung erlenmeyer besar yang berisi 400 ml YMB dan diinkubasi pada *waterbath shaker incubator* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu ruang selama 2 hari.

Proses selanjutnya adalah proses pemanenan biomassa sel khamir *C. hawaiiiana* CR015 menggunakan metode sentrifugasi. Proses sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit. Sel khamir yang terlarut dalam medium YMB akan terpisah membentuk pelet pada dasar tabung *ependorf* sedangkan medium akan berubah menjadi lebih bening sebagai supernatan. Pelet sel khamir yang terbentuk dicuci dengan akuades steril sebanyak 2 kali. Supernatan dibuang dan pelet selanjutnya harus segera dikeringkan atau dapat disimpan terlebih dahulu di dalam *freezer* pada *refrigerator* dengan suhu di bawah 4° C. Proses pengeringan dilakukan dengan menggunakan metode liofilisasi. Pengeringan dilakukan pada suhu -80°C dengan kondisi vakum pada tekanan 1 torr selama 3 x 6 jam. Biomassa yang telah kering digerus dengan menggunakan mortar dan disimpan pada suhu di bawah 4° C dalam *refrigerator*. Biomassa kering dalam bentuk serbuk dapat langsung dipakai sebagai komponen *pollen substitute*.

3.3.8 Pembuatan tepung kedelai rendah lemak

Tepung kedelai dibuat dari biji kedelai dengan beberapa tahap pemrosesan (Gambar 3.3.8), yaitu perendaman, perebusan, penghalusan, dan pengurangan kadar lemak. Biji kedelai direndam dengan air bersih selama 2 malam dan air diganti beberapa kali. Selanjutnya biji kedelai dikupas kulitnya dan direbus. Biji kedelai dikeringkan dalam oven dengan suhu 50°C hingga kering. Biji kedelai dihaluskan secara bertahap (5 kali) menggunakan *blender*. Setelah halus, tepung diayak untuk mendapatkan ukuran partikel tepung yang sama (500µm). Tepung kedelai yang sudah jadi disimpan di tempat yang bersih dan aman. Penurunan kandungan lemak tepung kedelai dilakukan dengan dua kali proses ekstraksi menggunakan heksan. Proses ekstraksi dilakukan di Lab. Kimia pangan Dept. Farmasi Fakultas Farmasi UI. Pengujian kandungan lemak sebelum dan sesudah ekstraksi dengan heksana dilakukan di Lab. Uji Fakultas Teknologi Pangan dan Gizi, IPB, Dermaga, Bogor. Penurunan kadar lemak dilakukan agar kandungan lemak dalam *pollen substitute* menjadi rendah supaya tidak bersifat racun bagi lebah madu..



Gambar 3.3.8. Pembuatan tepung kedelai rendah lemak
[Sumber: Sjamsuridzal dkk. 2010: 24.]

3.3.9 Pembuatan *pollen substitute*

Setiap bahan di timbang sesuai dengan komposisi *pollen substitute* berdasarkan Haydak (1967: 4) yaitu, tepung kedelai: susu skim: biomassa khamir 3: 1: 1 untuk PSA dengan tepung kedelai rendah lemak sebanyak 1,5 g, susu skim 0,5 g, dan biomassa khamir *C. hawaiiiana* CR015 0,5 g. Bahan dasar PSB dan PSC hanya terdiri atas tepung kedelai rendah lemak dan susu skim dengan perbandingan 3:1. Tepung kedelai rendah lemak sebanyak 1,9 g dan susu skim sebanyak 0,6 g sebagai bahan dasar PSB dan PSC. Pembuatan pasta *pollen substitute* dilakukan dengan penambahan madu asli untuk PSA dan PSC, sedangkan untuk PSB ditambahkan sirup gula 50 %.

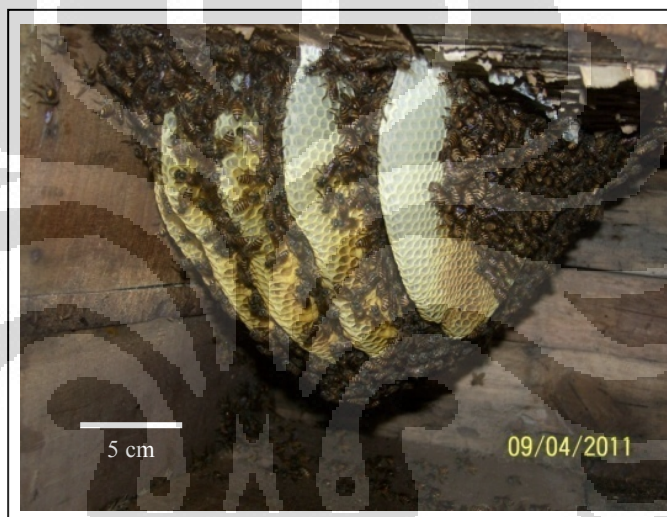
3.3.10 Analisis kimia kandungan *pollen substitute*

Kandungan kimia tepung kedelai dan *pollen substitute* dilakukan di Laboratorium Uji Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian, IPB. Analisis kandungan kimia tepung kedelai dilakukan sebelum dan

sesudah ekstraksi lemak. Analisis kandungan kimia *pollen substitute* dilakukan pada tepung PSA dan bahan dasar PSB dan PSC.

3.3.11 Penyiapan koloni lebah madu *Apis cerana*

Koloni lebah madu *A. cerana* (Gambar 3.3.11) disiapkan sebanyak 12 koloni dengan kondisi dan umur yang sama untuk setiap perlakuan. Setiap perlakuan masing-masing diberikan pada 3 koloni dan sebanyak 3 koloni digunakan sebagai kontrol. Setiap koloni memiliki sarang di dalam setiap kotak tanpa *frame*.



Gambar 3.3.11. Koloni lebah madu *Apis cerana* yang digunakan di apiari desa Cikurutug, Ciburial, Bandung.

[Sumber: dokumentasi pribadi]

3.3.12 Pemberian *pollen substitute*

Pemberian *pollen substitute* didahului dengan percobaan pendahuluan untuk mengetahui kesukaan lebah madu *A. cerana* terhadap bentuk pakan dan tempat pakan yang diberikan. Pada percobaan pendahuluan lebah madu *A. cerana* diberikan pakan dalam dua bentuk yaitu pasta dan cair selama satu minggu. Pemberian *pollen substitute* dalam bentuk pasta lebih disukai oleh lebah madu. Pemberian *pollen substitute* dalam bentuk cair kurang disukai oleh lebah madu *A. cerana*. Berdasarkan hasil pengamatan *pollen substitute* dalam bentuk cair menyebabkan sayap lebah menjadi basah dan dapat menyebabkan lebah tidak

dapat keluar dari *pollen substitute* yang berbentuk cair dan mati karena tidak bisa terbang. Selain itu, pemberian *pollen substitute* dalam bentuk cair sangat mudah mengalami kerusakan karena kontaminasi oleh kapang. Selanjutnya, pemakaian cawan petri sebagai tempat untuk pemberian *pollen substitute* kurang disukai oleh lebah madu.

Pada penelitian *pollen substitute* diberikan pada tempat datar yang dibuat dari kertas karton berwarna kuning yang dilaminasi berukuran 20 x 20 cm. Semua bahan *pollen substitute* dicampurkan langsung pada tempat pakan tersebut, kemudian ditambahkan dengan madu (pada PSA dan PSC) atau sirup gula 50 % (pada PSB) dengan perbandingan 1:1 lalu diaduk hingga merata menggunakan batang pengaduk (tusuk sate) steril. Pasta dibentuk dengan menambahkan akuades steril 1 ml. Peletakan *pollen substitute* di dalam kotak sarang dengan posisi sedekat mungkin di bawah sisir sarang lebah madu *A. cerana* (Gambar 3.3.12). Hal tersebut dilakukan supaya terjadi kontak langsung antara lebah madu dengan *pollen substitute*. *Pollen substitute* diberikan setiap hari selama 20 hari. PSA diberikan pada koloni 1, 2, dan 3, PSB diberikan pada koloni 4, 5, dan 6, dan PSC diberikan pada koloni 7, 8, dan 9, sedangkan koloni 10, 11, dan 12 tidak diberikan perlakuan (kontrol). Koloni kontrol dan koloni yang diberi perlakuan tetap dibiarkan mencari makan sendiri.

Sebelum diberi perlakuan *pollen substitute*, dilakukan pengamatan awal jumlah dan keliling *honey comb*. Jumlah *honey comb* dihitung dan disamakan antar koloni pada setiap perlakuan, sehingga dapat terlihat penambahan jumlah *honey comb* baru yang terbentuk selama 20 hari pemberian *pollen substitute*. Keliling *honey comb* diukur menggunakan tali ukur. Parameter lingkungan yaitu suhu dan kelembapan diukur setiap interval 6 jam per hari. Meskipun diberikan *pollen substitute*, lebah madu tetap dibiarkan untuk mencari pakan alami, sehingga *pollen substitute* berfungsi sebagai pakan tambahan. Pemberian dan penggantian *pollen substitute* dilakukan pada malam hari sehingga lebih mudah dalam mengerjakannya dan mengurangi resiko disengat oleh lebah pekerja karena semua aktivitas lebah pekerja keluar masuk kotak sarang untuk mencari pakan telah berhenti. Berat *pollen substitute* ditimbang sebelum dan sesudah pemberian setiap hari.



Gambar 3.3.12. Pemberian *pollen substitute*
[Sumber: Dokumentasi pribadi.]

3.3.13 Pengambilan dan analisis data

3.3.13.1 Konsumsi *pollen substitute*

Jumlah berat *pollen substitute* (PS) yang dikonsumsi oleh setiap koloni diukur setiap hari. Pengukuran konsumsi PS dilakukan setiap hari pada pemberian dan penggantian *pollen substitute*. Melalui pengukuran konsumsi *pollen substitute* maka dapat diketahui jumlah pakan yang dimakan oleh lebah madu dan juga untuk membandingkan preferensi setiap jenis *pollen substitute*. Jumlah berat *pollen substitute* yang dikonsumsi dikonversi dalam bentuk persentase. Persentase konsumsi PS oleh masing-masing koloni dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$\text{Persentase konsumsi PS} = \frac{(\text{berat awal} - \text{berat akhir}) \text{ PS}}{\text{berat awal}} \times 100 \%$$

Data persentase konsumsi harian yang diperoleh dikategorikan berdasarkan persentase konsumsi sebagai berikut:

Kategori 1: Tidak disukai = tingkat konsumsi 0 %--25 %

Kategori 2: Kurang disukai = tingkat konsumsi 26 %--50 %

Kategori 3: Disukai = tingkat konsumsi 51 %--75 %

Kategori 4: Sangat disukai = tingkat konsumsi 76 %--100 %

Data persentase konsumsi per hari dianalisis menggunakan uji statistik yaitu uji anova dan uji perbandingan berganda (uji Tukey).

3.3.12.2 Jumlah *honey comb*

Honey comb sebagai tempat penyimpanan madu, *bee bread*, dan larva. Adanya penambahan jumlah *honey comb* menunjukkan adanya penambahan produksi lebah madu. Penambahan jumlah *honey comb* diamati dengan menghitung jumlah penambahan dan pengambilan data gambar. Persentase penambahan jumlah *honey comb* digunakan untuk melihat penambahan jumlah sisir (*honey comb*) sebagai tempat penyimpanan larva dan produk lebah madu (madu, *bee bread*, dan royal jeli).

$$\text{Persentase penambahan } \textit{honey comb} = \frac{\sum \text{akhir} - \sum \text{awal}}{\sum \text{awal}} \times 100 \%$$

4.3.13.3 Keliling *honey comb*

Keliling *honey comb* diukur dengan menggunakan tali ukur (1 m). Parameter penambahan keliling *honey comb* diukur karena menunjukkan adanya penambahan luas *honey comb* sebagai tempat pengeraman larva dan penyimpanan produk dari lebah madu.

$$\text{Persentase penambahan keliling} = \frac{(\sum \text{akhir} - \sum \text{awal}) / \sum \text{awal}}{\sum \text{hari pemberian PS}} \times 100 \%$$

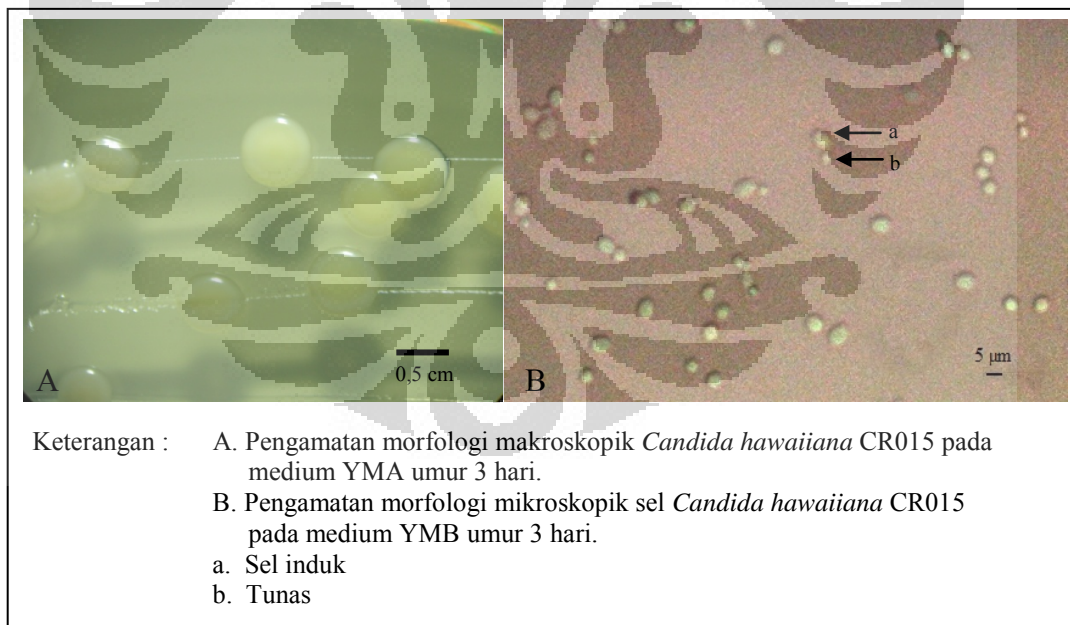
BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengamatan Karakter Khamir *Candida hawaiiiana* CR015

Pengamatan karakter khamir *C. hawaiiiana* CR015 yang dilakukan meliputi pengamatan karakter morfologi makroskopik koloni dan mikroskopik sel khamir. Karakter morfologi diamati dan dibandingkan dengan deskripsi spesies *C. hawaiiiana* oleh Lachance dkk. (2003: 99).

Pengamatan morfologi makroskopik koloni (Gambar 4.1.(a)) pada medium *yeast malt agar* (YMA) menunjukkan koloni *C. hawaiiiana* CR015 memiliki profil menggunung, tekstur *butyrous*, permukaan mengkilap, tepi koloni rata, dan berwarna putih. Pengamatan morfologi makroskopik pada medium cair *yeast malt broth* (YMB) pada umur biakan 3 hari menunjukkan adanya endapan pada dasar tabung reaksi. Akan tetapi, tidak terlihat adanya karakter *islet*, *pelicle*, ataupun *ring*.



Gambar 4.1. Hasil pengamatan morfologi *Candida hawaiiiana* CR015
[Sumber: Dokumentasi pribadi]

Pengamatan morfologi mikroskopik sel *C. hawaiiiana* CR015 (Gambar 4.1 (b)) menunjukkan bentuk sel bulat (*spheroidal*) dan tipe pertunasan multipolar dengan banyak titik pertumbuhan tunas. Sel khamir *C.hawaiiiana* CR015 umumnya hanya terdiri atas satu hingga beberapa sel atau berpasangan dan tidak terlihat adanya bentuk hifa. Hasil pengukuran sel pada medium YMB dengan suhu 25°C adalah 6,4--9,3 x 5,9--8,6 µm.

Hasil pengamatan morfologi makroskopik koloni pada medium agar menunjukkan adanya kesamaan dengan deskripsi spesies *C. hawaiiiana* oleh Lachance dkk. (2003: 99), namun Lachance dkk. (2003: 99) tidak menjelaskan karakter morfologi makroskopik pada medium cair. Ukuran sel *C. hawaiiiana* CR015 pada medium YMB terlihat lebih besar dibandingkan ukuran sel *C. hawaiiiana* pada medium *yeast extract glucose broth* berdasarkan deskripsi Lachance dkk. (2003: 99) yaitu 3--4 x 6--4 µm. Menurut Lachance dkk. (2003: 99), bentuk sel *C.hawaiiiana* berbentuk bulat hingga oval, tersusun atas sel tunggal atau berpasangan.

4.2 Penghitungan Jumlah Sel Khamir *C. hawaiiiana* CR015 Menggunakan Metode *Total Plate Count* (TPC)

Penghitungan jumlah sel khamir dilakukan untuk mengetahui jumlah sel khamir yang digunakan sebagai inokulum dalam pembuatan biomassa sel khamir *C. hawaiiiana* CR015. Jumlah sel khamir *C. hawaiiiana* CR015 menggunakan metode *total plate count* adalah 1--1,3 x 10⁸ CFU/ml dalam inokulum (Tabel 4.2). Menurut Rakin dkk. (2009: 468) dalam proses fermentasi yang optimal diperlukan inokulum dengan jumlah sel khamir sebanyak 1--2 x 10⁸ CFU/ml.

Penggunaan khamir sebagai komponen *pollen substitute* juga dilakukan oleh El-Wahab dan Gomaa (2005: 386--387) menggunakan biomassa *Candida tropicalis* namun tidak diketahui jumlah sel khamir yang diberikan sebagai inokulum dalam pembuatan biomassa khamir. Rogala dan Szymas (2004:30) juga memberikan sejumlah biomassa khamir *Candida utilis* sebagai komponen *pollen substitute*, dan juga tidak diketahui jumlah sel dalam inokulum pembuatan biomassa khamir *C. utilis*.

Tabel 4.2. Hasil penghitungan sel khamir pada inokulum pembuatan biomassa khamir

Jenis khamir	Pengenceran	Pengulangan	Jumlah koloni	CFU/ml	Range CFU/ml
<i>Candida hawaiiiana</i> CR015	10 ⁻⁵	1	101	1,08 x 10 ⁸	1-1,3 x 10 ⁸
		2	116		
		3	109		
	10 ⁻⁶	1	9	1,3 x 10 ⁸	
		2	12		
		3	18		
	10 ⁻⁷	1	-	10 ⁸	
		2	1		
		3	-		

4.3 Pollen Substitute

4.3.1 Pembuatan biomassa kering *C. hawaiiiana* CR015

Pembuatan biomassa khamir dilakukan dengan metode *batch fermentation*. Sebanyak 13,2 g biomassa kering khamir *C. hawaiiiana* CR015 dihasilkan dari 10 L medium YMB. Warna biomassa khamir *C. hawaiiiana* CR015 yang telah kering berwarna krem. Biomassa kering khamir *C. hawaiiiana* CR015 memiliki aroma khas fermentasi khamir yang sama dengan biomassa basah.

Pengeringan biomassa *C. hawaiiiana* CR015 berguna untuk penyimpanan jangka panjang dan menghindari kontaminasi mikroorganisme lainnya selama masa penyimpanan. Menurut Haydak (1957: 91) biomassa dalam bentuk kering dapat disimpan untuk jangka waktu yang panjang dan kemungkinan terjadinya kontaminasi kecil karena kadar air yang sangat rendah. Menurut Menyhart (2005: 1) biomassa khamir dalam bentuk kering memudahkan dalam menimbang biomassa khamir, karena berat kering merupakan berat stabil dan tidak terpengaruh terhadap kadar air dalam biomassa khamir.

4.3.2 Pembuatan tepung kedelai rendah lemak

Kadar lemak tepung kedelai diturunkan dengan ekstraksi menggunakan larutan heksan. Proses ekstraksi dilakukan sebanyak dua kali untuk mendapatkan kadar lemak di bawah 7%. Hasil ekstraksi yang pertama masih mengandung kadar lemak yang tinggi, yaitu 9,9 g/100 g. Setelah proses ekstraksi kedua menghasilkan kadar lemak yang sangat rendah, yaitu 1,7 g/100 g (Tabel 4.3.2.). Tepung kedelai setelah lemaknya diekstraksi memiliki warna yang berbeda dengan sebelum ekstraksi. Tepung kedelai yang lemaknya belum diekstraksi berwarna kekuningan, sedangkan setelah lemaknya diekstraksi menjadi berwarna putih (Gambar 4.3.2).

Tabel 4.3.2 Perbandingan kandungan kimia tepung kedelai sebelum dan setelah ekstraksi lemak dengan heksan.

No	Kadar	Hasil analisis (g/100g)		
		Sebelum ekstraksi	Ekstraksi pertama	Ekstraksi kedua
1	Air	4,42	3,38	5,97
2	Abu	2,27	2,89	3,25
3	Lemak	29,79	9,91	1,74
4	Protein	40,89	31,94	58,88
5	Karbohidrat	22,63	51,88	30,16



Gambar 4.3.2. Perbedaan warna tepung kedelai sebelum (a) dan sesudah (b) ekstraksi dengan heksan

[Sumber: dokumentsai pribadi]

Kadar lemak hasil akhir ekstraksi menggunakan heksan sebanyak 1,74 g/100 g. Menurut Bettelheim & March (1995: 287) lemak tidak dapat larut dalam air, tetapi dapat larut pada pelarut nonpolar atau pelarut dengan polaritas yang rendah. Menurut Guckert & White (1988: 132) heksan dapat melarutkan lemak karena heksan bersifat nonpolar sehingga dapat melarutkan lemak pada tepung kedelai. Heksan telah banyak digunakan sebagai pelarut organik untuk mengekstraksi lemak pada biji-bijian dan bahan pangan karena rendahnya tingkat toksisitas dibandingkan dengan pelarut lainnya seperti kloroform dan methanol. Menurut Friedrich & List (1981: 192) dalam kedelai terdapat kandungan lemak berupa asam lemak bebas, fosfolipid, dan trigliserida yang dapat dilarutkan dengan menggunakan heksana.

Kadar protein setelah proses ekstraksi lemak dengan larutan heksan menjadi naik dari 40,89 g/100 g menjadi 58,88 g/100 g. Peningkatan kadar protein disebabkan terlepasnya protein dari lemak selama proses ekstraksi menggunakan larutan heksan. Menurut Hoogenkamp (2005: 87) larutan heksan dapat melarutkan lemak sehingga ikatan lemak dengan protein menjadi terputus. Dengan demikian, protein terlepas dari lemak dan terjadi peningkatan kadar protein.

Kadar lemak yang rendah (1,74 g/100 g) pada hasil akhir ekstraksi tepung kedelai diperlukan sebagai komponen *pollen substitute*. Menurut Somerville (2000: 6) kandungan lemak dalam *pollen substitute* sebaiknya di bawah 7 % agar tidak bersifat racun bagi lebah madu. Menurut Manning (2008: 4) konsentrasi lemak yang tinggi dapat menurunkan masa hidup dan menyebabkan ukuran kelenjar hipofaringeal terlalu besar pada puncak perkembangannya, namun setelah itu mengecil sehingga aktivitas kelenjar tersebut untuk menghasilkan makanan (royal jeli) pada lebah madu terganggu.

4.3.3 Analisis kandungan nutrisi *pollen substitute*

Pollen substitute yang dibuat kemudian dianalisis kandungan protein, lemak dan karbohidratnya. Hasil analisis kandungan protein, lemak dan karbohidrat dari

PSA (tepung kedelai, susu skim, dan biomassa khamir *C. hawaiiiana* CR015) dengan bahan dasar PS (tepung kedelai dan susu skim) dapat dilihat pada Tabel 4.3.3.

Berdasarkan hasil analisis kandungan kimia *pollen substitute* (Tabel 4.3.3.), PSA dan bahan dasar PSB dan PSC memiliki kandungan protein tinggi yaitu berturut-turut 45,45 g/100 g dan 51,39 g/100 g. Persentase kadar protein pada PSA lebih rendah dibandingkan dengan persentase kadar protein pada bahan dasar PSB dan PSC. Hal tersebut disebabkan adanya kenaikan jumlah persentase satu komponen yang menyebabkan menurunnya persentase komponen lainnya yaitu persentase kadar karbohidrat pada PSA dibandingkan persentase kadar karbohidrat pada bahan dasar PSB dan PSC. Penambahan jumlah karbohidrat pada PSA disebabkan adanya penambahan biomassa khamir. Menurut Bekatorou dkk. (2006: 408) sel khamir memiliki kandungan karbohidrat yang cukup tinggi, yaitu 35--45 %.

Tabel 4.3.3 Perbandingan hasil analisis kandungan PSA dengan PSB dan PSC.

No	Kandungan	Hasil analisis (g/100 g)	
		Tepung kedelai + susu skim + khamir (PSA)	Tepung kedelai + susu skim (PSB & PSC)
1	Air	5,39	5,54
2	Abu	3,00	2,87
3	Lemak	1,78	1,79
4	Protein	45,45	51,31
5	Karbohidrat	44,38	38,49

Kandungan protein dari PSA (45,45 g/100 g) dan bahan dasar PSB dan PSC (51,39 g/100 g) telah mencukupi untuk kebutuhan bagi lebah madu. Menurut Haydak (1957: 90) lebah madu minimal setiap harinya membutuhkan protein sebanyak 20 % dan menurut Somerville (2000: 5), untuk perkembangan optimum lebah madu membutuhkan asupan protein sebanyak 23 % setiap hari sedangkan variasi kandungan protein pada serbuk sari alami 6--40 %, maka *pollen substitute* yang dibuat memiliki kandungan protein yang lebih tinggi, sehingga dapat mencukupi kebutuhan protein bagi lebah madu.

Menurut Black (2006: 28--29) protein berperan dalam perkembangan larva dan pupa hingga menjadi lebah madu dewasa (umur 9--14 hari). Oleh karena itu diperlukan kadar protein tinggi untuk mencukupi kebutuhan larva dan perkembangan pupa. Kebutuhan protein berkurang saat lebah madu mulai dewasa (berumur > 14 hari) bertugas mencari makan (nektar dan serbuk sari) dan digantikan dengan karbohidrat sebagai sumber energi untuk terbang. Akan tetapi dalam penelitian ini tidak diamati pengaruh pemberian *pollen substitute* dengan kadar protein tinggi terhadap usia hidup lebah pekerja. Menurut Herbert dkk. (1977: 142) kadar protein yang terlalu tinggi (mencapai 50 %) juga dapat menyebabkan keracunan bagi lebah madu dewasa. Keracunan terjadi karena terdapat akumulasi protein yang tidak dapat tercerna oleh lebah madu, sehingga lebah madu akan mengalami penurunan usia hidup.

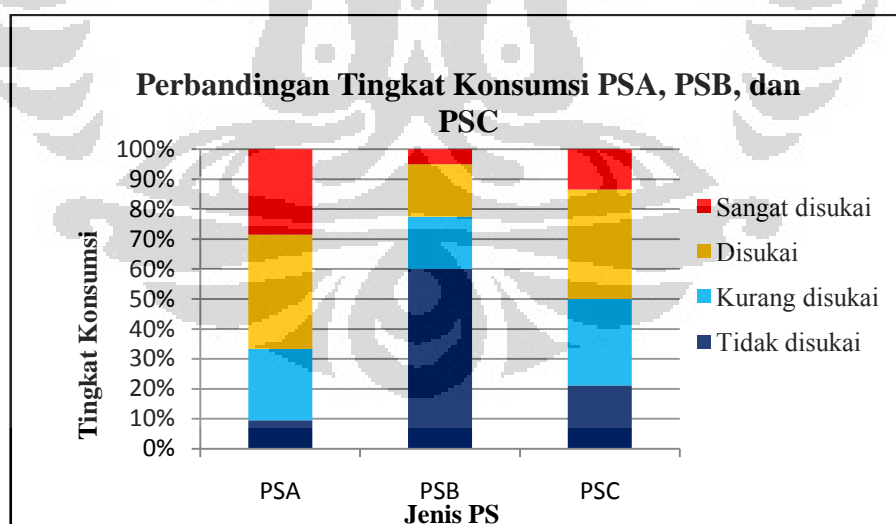
Kandungan lemak pada PSA dan bahan dasar PSB dan PSC sangat sedikit yaitu 1,78 g/100 g dan 1,79 g/100 g. Hal tersebut karena kandungan lemak terbesar berasal dari tepung kedelai sudah diturunkan hingga < 2 %. Menurut Brodschneider dan Crailsheim (2010: 286) kebutuhan lemak oleh lebah madu tidak sebesar kebutuhan protein dan karbohidrat. Lemak dibutuhkan dalam jumlah sedikit oleh lebah madu, sehingga apabila terlalu banyak kandungan lemak pada *pollen substitute* akan memengaruhi perkembangan koloni lebah madu. Menurut Somerville (2000: 6) kadar lemak yang tinggi dapat menyebabkan kematian bagi lebah madu karena dapat bersifat racun. Menurut Manning (2008: 81) kadar lemak yang tinggi pada *pollen substitute* dapat menyebabkan berkurangnya usia hidup lebah madu, kelebihan ukuran kepala dan penurunan jumlah pengeraman larva dan telur. Kelebihan ukuran kepala disebabkan adanya perkembangan berlebih pada kelenjar hipofaringeal. Kelenjar hipofaringeal akan mengalami pembesaran yang berlebihan dan akan langsung menyusut drastis sehingga kelenjar tersebut tidak dapat berfungsi. Oleh karena itu, *pollen substitute* sangat sedikit kemungkinannya bersifat racun dan mengurangi tingkat produktivitas lebah madu karena kandungan lemaknya yang sangat sedikit.

Kadar karbohidrat dalam *pollen substitute* terlihat cukup tinggi, yaitu 44,38 g/100 g pada PSA dan 38,49 g/100 g pada bahan dasar PSB dan PSC. Menurut Standifer dkk. (1977: 2.) karbohidrat sangat diperlukan baik oleh larva

maupun oleh lebah madu pekerja dewasa sebagai sumber energi utama, mempertahankan suhu tubuh, dan kinerja organ vital pada lebah madu seperti kelenjar hipofaringeal dan kelenjar lilin. Menurut Brodschneider dan Crailshiem (2010: 281) karbohidrat lebih dibutuhkan dibandingkan protein bagi lebah madu pekerja dewasa sebagai sumber energi untuk mencari makanan di alam. Namun demikian, diperlukan analisis lebih rinci untuk mengetahui kadar asam amino, jenis karbohidrat, vitamin dan mineral yang terkandung dalam *pollen substitute*.

4.4 Tingkat Konsumsi *Pollen Substitute*

Data pengamatan setiap *pollen substitute* pada setiap koloni *A. cerana* berbeda-beda. Data pengamatan pemberian PSA sebanyak 48, PSB sebanyak 44, dan PSC sebanyak 50. Perbedaan jumlah data konsumsi tersebut karena adanya koloni yang minggat (*abscond*) selama pemberian *pollen substitute*. Akan tetapi, jumlah data yang diperoleh sudah cukup untuk dianalisis secara deskriptif dan statistik. Perbandingan preferensi tingkat konsumsi antara PSA, PSB, dan PSC dapat dilihat pada gambar 4.4.



Gambar 4.4. Perbandingan tingkat konsumsi PSA, PSB, dan PSC berdasarkan kategori kesukaan terhadap jenis *pollen substitute*

Berdasarkan gambar 4.4.1, terlihat bahwa PSA lebih disukai dibandingkan PSB dan PSC. PSA memiliki frekuensi sangat disukai sebanyak 28,57 % dan yang

disukai 38,10 % oleh *A. cerana*. PSB hanya memiliki frekuensi sangat disukai sebanyak 5 % dan disukai 17 % *A. cerana*. PSC terlihat cukup disukai oleh *A. cerana* dengan frekuensi sangat disukai sebanyak 13,46 % dan disukai 36 % oleh *A. cerana*. Frekuensi kurang disukai pada PSA sebanyak 23,81 % dan yang tidak disukai sebanyak 9,52 %. PSB memiliki frekuensi tidak disukai 60 % dan disukai 18 %. Sedangkan pada PSC, sebanyak 28,85 % frekuensi yang kurang disukai dan 21,15 yang tidak disukai.

Hasil uji homogenitas varians menunjukkan bahwa data tingkat konsumsi yang diperoleh dari setiap kelompok adalah sama atau homogeny ($p > 0,05$). Oleh karena itu dapat dilanjutkan dengan uji analisis varians (Anova). Hasil uji Anova menunjukkan tingkat konsumsi rata-rata ketiga jenis PS oleh lebah madu *A. cerana* berbeda nyata ($p < 0,001$). Tingkat konsumsi rata-rata lebah madu *A. cerana* terhadap PSA sebesar 55,59 % ($n=48$), PSB sebesar 34,26 % ($n=44$), dan PSC sebesar 50,39 % ($n=50$). Uji perbandingan berganda (*multiple comparison*) dilakukan menggunakan uji Tukey ($\alpha=0,05$) menunjukkan adanya perbedaan nyata antara tingkat konsumsi PSA dengan PSB dan antara PSB dengan PSC, namun tidak berbeda nyata antara PSA dengan PSC.

Perbedaan tingkat konsumsi rata-rata antara PSA, PSB dan PSC disebabkan perbedaan pemakaian madu, sirup gula, dan biomassa kering khamir *C. hawaiiiana* CR015. Pemberian PSA dan PSC tidak berbeda nyata dalam tingkat konsumsi karena kedua-duanya menggunakan madu asli dari apiari tersebut dalam pembuatan pasta *pollen substitute*, sedangkan PSB menggunakan sirup gula 50 %. Berdasarkan hasil pengamatan *pollen substitute* yang dicampurkan dengan sirup gula memiliki kelemahan karena mengalami pengerasan apabila kelembapan udara menurun. Menurut Somerville (2000: 3 & 7) penggunaan madu asli dalam pembuatan pasta *pollen substitute* menyebabkan pasta *pollen substitute* memiliki tekstur lembut dan tidak mengeras sehingga lebih disukai oleh lebah madu. Madu asli yang digunakan pada penelitian ini berasal dari apiari yang sama sehingga disukai oleh lebah madu dan dapat mencegah persebaran penyakit dari koloni lebah madu lainnya. Menurut Black (2006: 10) madu merupakan makanan utama bagi lebah madu, yaitu sebagai sumber energi (karbohidrat) dan telah dikenal oleh lebah madu *A. cerana*. Menurut Bogdanov

(2009: 2--5) madu berasal dari nektar beberapa jenis bunga yang memiliki kandungan banyak jenis karbohidrat seperti glukosa, fruktosa, sukrosa, dan sebagian kecil asam amino, lemak, asam lemak, asam organik, mineral, dan senyawa *volatile* yang beraroma khas bagi lebah madu. Sedangkan sirup gula adalah larutan gula pasir yang hanya mengandung sukrosa saja sehingga kurang disukai oleh lebah madu *A. cerana*.

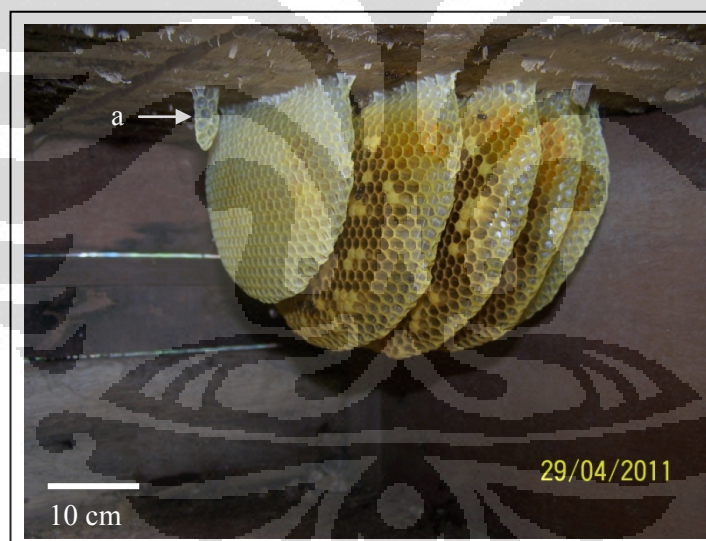
Pemberian *pollen substitute* dilakukan setiap hari selama 20 hari dari tanggal 10--30 April 2011. Kondisi cuaca harian dan selama perlakuan (masa pemberian *pollen substitute*) tidak stabil. Cuaca selama diberi perlakuan sebagian besar hujan ringan dan mendung dan kadang-kadang cerah. Suhu lingkungan di lokasi apiari cukup rendah (24,2°C) dengan kelembapan yang tinggi (88,22 %) (Lampiran 4). Menurut Yulihastin (2011: 4) selama bulan April 2011 merupakan awal pergantian musim dari musim hujan ke musim kemarau dimana intensitas hujan yang cukup tinggi. Menurut Pokhrel dkk. (2006: 77--84) lebah madu *A. cerana* dikenal sangat sensitif terhadap perubahan lingkungan disekitarnya dan juga gangguan fisik terhadap koloni. Perubahan suhu dan kelembapan udara dan juga jumlah ketersediaan pakan di alam yang kurang dapat menyebabkan koloni minggat. Berbagai macam gangguan secara fisik dari makhluk hidup lainnya seperti tawon, kecoa, bahkan manusia juga dapat memberikan dampak yang sama. Banyaknya gangguan terhadap koloni selama perlakuan pada penelitian ini merupakan gangguan fisik yang menyebabkan minggatnya koloni *A. cerana*.

Pemberian biomassa kering khamir *C. hawaiiiana* CR015 sebagai komponen *pollen substitute* pada PSA menunjukkan tingkat konsumsi rata-rata yang paling tinggi (55,59 %) dibandingkan PSB (34,26 %) dan PSC (50,39 %). Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena biomassa khamir *C. hawaiiiana* CR015 memiliki aroma khas yang telah dikenal oleh lebah madu sehingga lebih disukai. Menurut Bekatorou dkk. (2006: 410) sel khamir dapat menghasilkan aroma dan rasa yang khas hasil dari metabolisme sel, dan memiliki kandungan protein yang tinggi. Menurut Haydak (1957: 90) pemberian biomassa khamir dalam komponen *pollen substitute* dilakukan untuk menambah kebutuhan protein bagi lebah madu dan melengkapi asam amino pada khamir yang tidak terkandung pada tepung kedelai, yaitu triptopan. El-Wahab dan Gomaa (2005: 389)

melaporkan bahwa sel khamir juga diketahui dapat memberikan pengaruh terhadap peningkatan produksi larva pekerja, larva jantan, sel yang berisi madu, larva calon ratu dan madu yang dihasilkan.

4.5 Tingkat Produktivitas Lebah Madu *Apis cerana*.

Pengambilan data awal jumlah dan keliling *honey comb* dilakukan sebelum pemberian *pollen substitute* dan data akhir diamati setelah pemberian terakhir *pollen substitute*. Adanya fenomena minggat (*abscond*) pada beberapa koloni yang diberikan perlakuan sehingga pengamatan terakhir jumlah dan panjang keliling *honey comb* dilakukan pada saat setelah koloni tersebut minggat. Koloni yang minggat, digantikan oleh koloni lain dan diamati data awal jumlah dan keliling *honey comb*, kemudian koloni pengganti juga diberikan *pollen substitute*.



Gambar 4.5. Penambahan *honey comb* baru (a) pada koloni lebah madu *Apis cerana*. [Sumber: Dokumentasi pribadi.]

Berdasarkan data pada akhir pengamatan (Tabel 4.5) terlihat adanya penambahan satu sisir madu (*honey comb*) pada koloni yang diberikan *pollen substitute* yaitu koloni 1 dan 2A (PSA) dengan keliling 6 dan 5 cm, koloni 4 dan 5 (PSB) dengan panjang keliling 12 dan 13 cm dan pada koloni 7 dan 8 dengan panjang keliling 19 dan 12 cm. Akan tetapi pada koloni kontrol tidak terlihat adanya penambahan jumlah *honey comb*.

Penambahan jumlah *honey comb* (Gambar 4.3) terdapat hampir pada setiap koloni yang diberikan *pollen substitute*. Penambahan panjang keliling *honey comb* pada koloni yang diberikan PSA adalah sebesar 0,69--1,92 % per hari dengan rata-rata 1,16 % per hari. Pemberian PSB menunjukkan adanya penambahan panjang keliling *honey comb* adalah sebesar 0--1,95 % (koloni 6 tidak ada penambahan panjang keliling) per hari dengan rata-rata 1,26 % per hari. Penambahan panjang keliling *honey comb* pada pemberian PSC rata-rata per hari dari setiap koloni adalah sebesar 0,39--2,28 % per hari dengan rata-rata 1,03 % per hari. Penambahan panjang keliling *honey comb* pada koloni kontrol sebesar 0,12--0,26 % per hari dengan rata-rata 0,19 % per hari.

Tabel 4.5 Penambahan jumlah dan keliling *honey comb*

Koloni	Jenis PS	Jumlah <i>honey comb</i>		Jumlah penambahan <i>honey comb</i>	Keliling <i>honey comb</i> (cm)		Jumlah hari	Penambahan keliling/hari (%)	Rata-rata setiap koloni
		Awal	Akhir		Awal	Akhir			
1	PSA	5	6	1	126	146	18	0,88	1,16 ± 0,66
2A	PSA	4	5	1	87	102	10	1,92	
3	PSA	5	5	0	159	181	20	0,69	
4B	PSB	6	7	1	177	208	9	1,95	1,26 ± 1,09
5B	PSB	5	6	1	134	161	11	1,83	
6	PSB	5	5	0	169	169	20	0	
7	PSC	4	5	1	103	150	20	2,28	1,03 ± 1,08
8	PSC	6	7	1	261	283	20	0,42	
9	PSC	4	4	0	85	89	10	0,39	
10	kontrol	5	5	0	218	226,5	20	0,19	0,19 ± 0,07
11	kontrol	4	4	0	165	169	20	0,12	
12	kontrol	5	5	0	175	184	20	0,26	

Berdasarkan Tabel 4.5 terlihat adanya perbedaan penambahan jumlah dan keliling *honey comb* antara koloni lebah madu yang diberikan *pollen substitute* dengan koloni kontrol yang hanya mendapat serbuk sari alami. Tingginya

kandungan protein dalam *pollen substitute* (45,45 g/100 g pada PSA dan 50,59 g/100 g pada PSB dan PSC) yang dikonsumsi terbukti dapat meningkatkan penambahan keliling *honey comb* yang signifikan dibandingkan dengan koloni lebah madu kontrol. Menurut Mutsaers dkk. (2005: 43), *honey comb* disintesis pada kelenjar lilin di bagian *abdomen* lebah madu pekerja. Menurut Cassier dan Lensky (1995: 24) lilin *honey comb* yang terdiri atas asam lemak, hidrokarbon dan protein (lipophorin) dalam proses sintesisnya sangat bergantung pada asupan protein yang dikonsumsi oleh lebah madu pekerja perawat (berumur <14 hari).

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa pemberian PSB menghasilkan penambahan keliling *honey comb* rata-rata yang paling besar (1,26 %) dibandingkan pada pemberian PSA (1,16 %) dan PSC (1,03 %). Namun demikian, terdapat rentang yang paling besar pada pemberian PSB ($\pm 1,09$ %) diikuti dengan pemberian PSC ($\pm 1,08$ %) pada nilai penambahan keliling *honey comb*. Koloni dengan pemberian PSA memperlihatkan rentang nilai penambahan keliling *honey comb* yang paling kecil ($\pm 0,66$ %) dari ketiga perlakuan.

Pemberian PSA sebagai *pollen substitute* memberikan nilai penambahan keliling *honey comb* yang paling konsisten pada tiga koloni yang diberikan. Adanya penambahan biomassa khamir *C. hawaiiensis* CR015 pada PSA melengkapi ketersediaan asam amino yang dibutuhkan bagi lebah madu *A. cerana*. Menurut Somerville (2000: 5) kedelai tidak memiliki kandungan satu asam amino, yaitu triptofan. Oleh karena itu, biomassa khamir dapat melengkapi kebutuhan asam amino yang kurang pada tepung kedelai. Menurut El-Wahab dan Goma (2005: 388--389) kandungan protein, mineral, asam organik, vitamin (terutama vitamin B kompleks) pada khamir dapat meningkatkan produksi larva pekerja, larva jantan, larva calon ratu dan madu yang dihasilkan dan semua produk tersebut diperam dan disimpan di dalam sel sarang pada *honey comb*.

Namun demikian, produktivitas lebah madu *Apis cerana* belum terlihat nyata pada pemberian *pollen substitute* selama 20 hari. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan pemberian *pollen substitute* dalam jangka waktu yang lebih panjang (selama 40 hari, 60 hari, dan selama satu tahun) sehingga dapat diketahui bahwa *pollen substitute* yang diberikan efektif dalam meningkatkan produktivitas lebah madu *Apis cerana* (madu, *bee bread*, *honey comb*, dan larva).

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Penelitian berhasil membuat *pollen substitute* yang disukai oleh lebah madu *A. cerana* dengan menggunakan bahan dasar lokal, yaitu tepung kedelai rendah lemak dan susu skim. *Pollen substitute* yang paling disukai oleh lebah madu *A. cerana* adalah PSA (rata-rata konsumsi 55,59 % per hari) dan PSC (rata-rata konsumsi 50,39 % per hari), sedangkan PSB (rata-rata konsumsi 34,26 % per hari) kurang disukai oleh lebah madu *A. cerana*.
2. Pemberian *pollen substitute* dapat meningkatkan produktivitas lebah madu *A. cerana* dengan adanya peningkatan keliling *honey comb* yang signifikan (0--2,28 % per hari) dibandingkan dengan koloni yang tidak diberikan *pollen substitute* (0,19--0,26 % per hari) .

5.2 Saran

1. Analisis kimia kandungan *pollen substitute* perlu dilakukan untuk mengetahui kandungan nutrisi (asam amino, asam lemak, jenis karbohidrat, vitamin dan mineral) yang terkandung di dalamnya.
2. Pemberian *pollen substitute* pada koloni *Apis cerana* dengan jangka waktu yang lebih panjang perlu dilakukan sehingga dapat diketahui dengan jelas bagaimana pengaruh pemberian jenis *pollen substitute* pada produktivitas (kualitas dan kuantitas madu, royal jeli, lilin, jumlah larva, dan *bee bread*) lebah madu *Apis cerana*.
3. Pengamatan produktivitas lebah madu *Apis cerana* perlu dilakukan mengenai pengaruh pemberian *pollen substitute* dengan kadar protein, karbohidrat, dan lemak yang berbeda-beda.

DAFTAR REFERENSI

- Abbas, C. A. 2006. Production of antioxidants, aromas, colours, flavor, and vitamins by yeast. *Dalam*. Querol, A. & G. Fleet (eds.). 2006. *Yeast in food and beverages* Springer-Verlag Berlin: viii + 453 hlm.
- Adalina, Y. 2008. Analisis financial usaha lebah madu *Apis mellifera* L. *Jurnal Penelitian Hutan Dan Konservasi Alam* 5(3): 217--237.
- Agustina, D. K. 2008. *Perkembangan koloni lebah madu Apis mellifera L. yang mendapat polen pengganti dari tiga jenis kacang dengan dan tanpa vitamin B kompleks*. Skripsi Program Studi Teknologi Produksi Ternak Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, Bogor: 71 hlm.
- Allen, S. 2011. *Skim milk powder*. Canadian Dairy Commission: 6 hlm.
- Atlas, R. M. 2010. *Handbook of microbiological media* 4th ed. CRC Press. Florida: v + 2036 hlm.
- Barker, K. 1998. *At the bench a laboratory navigator*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York: xiv + 460 hlm.
- Basukriadi, A., W. Sjamsuridzal & B. B. Putra. 2010. Molecular identification and diversity of yeasts associated with *Apis cerana* foraging of *Jatropha integerrima*. *Microbiology Indonesia* 4 (1): 44--48.
- Bekatorou, A., C. Psarianos & A. A. Koutinas. 2006. Production of food grade yeasts. *Food Biotechnology* 44 (3): 407--415.
- Benson. 2001. *Microbiological applications laboratory manual in general micobiology* 8th ed. Mc-Graw Hill Companies: xi + 478 hlm.
- Bettelheim, F. A. & J. March. 1995. *Introduction to organic and biochemistry* 2nd ed. Saunders College Publishing. Orlando: xxviii + 510 hlm.
- Black, J. 2006. *Honeybee nutrition: review of research and practices*. Rural Industries Research and Development Corporation, New South Wales: 79 hlm.
- Bogdanov, S. 2007. *Authencity of honey and other bee product: state of the art*. Bulletin USAMV-CN: 63--70.
- Bogdanov, S. 2009. Honey composition. *Bee Product Science*: 1--13.

- Caillas, A. 1966. The role and important of apicultural by products pollen, royal jelly, bee venom, propolis. *Apiacta* **1**: 1--4.
- Cappuccino, J. G. & N. Sherman. 2002. *Microbiology: A Laboratory manual*. Benjamin Cummings, San Francisco: xvi + 491 hlm.
- Cassier, P. & Y. Lensky. 1995. Ultrastructure of the wax gland complex and secretion of beeswax in the worker honey bee *Apis mellifera* L. *Apidologie*. **26**: 17--26.
- Cinar, A. S. J. Parulekar, C. Undey & G. Birol. *Batch fermentation, modeling, monitoring, and control*. Marcel Dekker, Inc. New York: xxxiii + 584 hlm.
- De Jong, D., E. J. da Silva, P. G. Kevan & J. L. Atkinson. 2009. Pollen substitute increase honey bee haemolymph protein levels as much as more than does pollen. *Journal of Apicultural Research and Bee World* **48**(1): 34--37.
- Deak, T. 2008. *Handbook of food spoilage yeasts* 2nd ed. CRC Press. Florida: xxii + 325 hlm.
- Djati, F. D. H. 2009. Studi trypsin inhibitor dan alfa-amylase inhibitor pada pohon sengon (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) provenan Banjarnegara dan Subang. Skripsi Departemen Silviculture Fakultas Kehutanan, IPB, Bogor: 73 hlm.
- El-Wahab, T. E. Abd, & A. M. Gomaa. 2005. Application of yeast culture (*Candida tropicalis*) as pollen substitute in feeding honey bee colonies (*Apis mellifera*) in Egypt. *Journal of Applied Science Research* **1**(5): 386-390.
- Engel, M. S. 1999. The taxonomy of recent fossil honey bees (Hymenoptera: Apidae; *Apis*). *Journal. Hymenoptera Research* **8**(2): 165--196.
- Friedrich, J. P. & G. R. List. 1981. Characterization of soybean oil extracted by supercritical carbon dioxide and hexane. *Agricultural Research Science and Education Administration*: 192--193.
- Gandjar, I., I. R. Koentjoro, W. Mangunwardoyo & L. Soebagya. 1992. *Pedoman praktikum mikrobiologi dasar*. Jurusan Biologi Universitas Indonesia, Depok: vii + 87 hlm.

- Ganter, P. F. 2006. Yeast and invertebrate associations. *Dalam*. C. Rosa & G. Peter (eds.). 2006. *Biodiversity and ecophysiology of yeast*. Springer-Verlag Berlin: x + 579 hlm.
- Gilliam, M. 1979. Microbiology of pollen and bee bread: the yeasts. *Apidologie* **10** (1): 43--53.
- Glover, B. J. 2007. *Understanding flowers and flowering*. Oxford University Press. New York: x + 227 hlm.
- Grandi-Hoffman, G de, G. Wardell, F. Ahumada-Segura, T. Rinderer, R. Danka & J. Pettis. 2008. Comparison of pollen substitute diets for honey bees: consumption rates by colonies and effects on brood and adult population. *Journal of Apicultural research and Bee World*. **47**(4): 265--270.
- Guckert, J. B. & D. C. White. 1988. Evaluation of hexane/isopropanol lipid solvent system for analysis of bacterial phospholipid and application to chloroform-soluble nucleopore (polycarbonate) membranes with retained bacteria. *Journal of microbiological methods* **8**: 131--137.
- Haydak, M. 1957. Is there a pollen substitute equal to pollen. *The American Bee Journal* **97**(3): 90--91.
- Haydak, M. 1967. Bee nutrition and pollen substitute. *Apiacta* **1**: 1--5.
- Herbert, E. W. Jr., H. Shimanuki & D. Caron. 1977. Optimum protein levels required by honey bees (Hymenoptera, Apidae) to initiate and maintain brood rearing. *Apidologie* **8** (2): 141--146.
- Herrera, C. M., R. Perez & C. Alonso. 2006. Extreme intraplant variation in nectar sugar composition in an insect pollinated perennial herb. *American journal of Botany*. **93**: 575--581.
- Hiyon, D. 1970. Ecology of yeasts. *Korea Journal Microbiology* **8**: 41--51.
- Hoogenkamp, H. W. 2005. Soy protein and formulated meat products. CABI Publishing, London: xv + 288 hlm.
- Kathiresan, K. & K. Srinivasan. 2005. Making artificial honey using yeast cells from salivary glands of honey bees. *Indian Journal of Experimental Biology*. **43**: 664--666.

- Krisnawati, O. 2003. *Perkembangan koloni lebah madu Apis cerana yang diberi pakan tambahan*. Skripsi Program Studi Teknologi Produksi Ternak. Fakultas Peternakan IPB, Bogor: 25 hlm.
- Kuntadi. 2008. Perkembangan koloni *Apis mellifera* L. yang diberi tiga formula kedelai sebagai pakan buatan pengganti serbuk sari. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam* 5 (4): 367--379.
- Kurtzman, C. P. & J. W. Fell. 1998. *The yeasts: a taxonomic study*, 4th ed. Elsevier. New York: xiii + 1055 hlm
- Lachance, M. A., J. M. Bowles & W. T. Starmer. 2003. *Metschnikowia santaceciliae*, *Candida hawaiiiana*, and *Candida kipukae*, three new yeast species associated with insects of tropical morning glory. *FEMS Yeasts research* 3: 97--103.
- Liferdi, L. 2008. Lebah pollinator utama pada tanaman hortikultura. *IPTEK Hortikultura* 4: 1--5.
- Manning, R. 2008. *The effect of high and low fat pollens on honeybee longevity*. Rural Industries Research and Development Corporation, New South Wales: 92 hlm.
- Michener, C. D. 2007. *The bees of the world* 2nd ed. John Hopkins University Press. Baltimore: xvi + 953 hlm.
- Munitis, M. T., E. Cabrera & A. Rodriguez-Navaro. 1976. An obligate osmophilic yeast from honey. *Applied and Environmental Microbiology* 32 (3): 320--323.
- Mutsaer, M., H. van Blitterswijk, L. van't Leven, J. Kerkvliet & J. van de Waerd. 2005. *Bee product: properties, processing, and marketing*. Agromisa Foundation, Wageningen: 94 hlm.
- Oldroyd, B. P. & Wongsiri, S. 2006. *Asian honey bees: biology, conservation, and human interaction*. Harvard University Press. London: xv + 340 hlm.
- Pirk, C. W. W., C. Boodhoo, H. Human & S. W. Nicolson. 2010. The importance of protein type and protein to carbohydrate ratio for survival and ovarian activation of caged honeybees (*Apis mellifera scutellata*) *Apidologie* 41: 62--72.

- Pokhrel, S., R. B. Thapa, F. P. Neuphane, & S. M. Shrestha. 2006. Absconding behavior and management of *Apis cerana* F. honeybee in Chitwan, Nepal. *Journal Insect Agriculture Animal Science* **27**: 77--86.
- Rakin, M., L. Mojovic, S. Nikolic, M. Vukasinovic & V. Nedovic. 2009. Bioethanol production by immobilized *Sacharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* cells. *Journal of Biotechnology* **8**(3): 464--471.
- Rogala, R. & B. Szymas. 2004. Nutritional value for bees of pollen substitute with synthetic amino acid, part II. biological methods. *Journal of Apicultural Science* **48** (1): 29--36.
- Safari, A., P. G. Kevan & J. L. Atkinson. 2010. Palatability and consumption of patty-formulated pollen and pollen substitutes and their effects on honeybee colony performance. *Journal of Apicultural Science* **54**(2): 63--71.
- Sandhu, D. K. & M. K. Waraich. 1985. Yeasts associated with pollinating bees and flower nectar. *Microbial Ecology* **11**: 51--58.
- Sanford, M. T. & A. Dietz. 1976. The fine structure of the wax gland of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*. **7**(3): 197--207.
- Simone-Finstrom, M. & M. Spivak. 2010. Propolis and bee health: the natural and significance of resin use by honey bees. *Apidologie* **41**: 295--311.
- Sjamsuridzal, W., A. Basukriadi & E. Anwar. 2010. Pembuatan *pollen substitute* sebagai pakan lebah madu menggunakan mikroorganisme dan bahan lokal. Laporan Akhir Hibah Kompetitif Strategis Nasional: 37 hlm.
- Smith, D. R., L. Villafuerte, G. Otis & M. R. Palmer. 2000. Biogeography of *Apis cerana* Fabr. and *A. nigrocincta* Smith: insight from mtDNA studies. *Apidologie* **31**: 265-279.
- Somerville, D. 2000. Honey bee nutrition and supplementary feeding. *NSW Agriculture*: 1--8.
- Standifer, L. N., F. E. Moeller, N. M. Kauffeld, E. W. Herbert & H. Shimanuki. 1977. Supplemental feeding of honey bee colonies. *Agriculture Information Bulletin* 413: 1--9.
- Vega, C. de., C. M. Herrera & S. D. Johnson. 2009. Yeast in floral nectar of some south african plants: qualification and associations with pollinator type and sugar concentration. *South African Journal of Botany* **75**: 798--806.

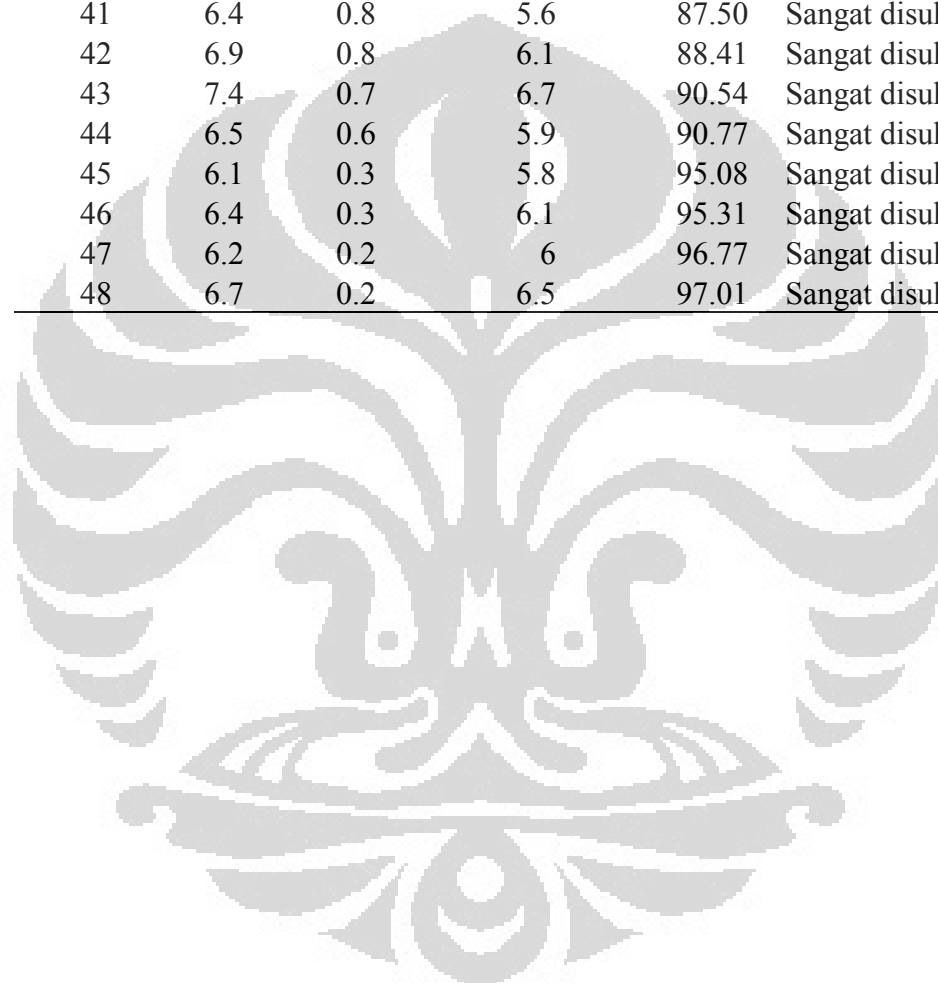
- Walker, G. M. 1998. *Yeast physiology and biotechnology*. John Wiley & Sons, Ltd. New York: xi + 350 hlm.
- Walker, G. M. & N. A. White. 2005. Introduction to fungal physiology. *Dalam*. K. Kavanagh (ed.). 2005. *Fungi: biology and application*. John Wiley & Sons Ltd. Chichester: xii + 280 hlm
- Yarrow, D. 1998. Methods for the isolation, maintenance, and identification of yeasts. *Dalam*: C. P. Kurtzman & J. W. Fell (eds.). 1998. *The yeasts, a taxonomic study 4th ed.* Elsevier, New York: xiii + 1055 hlm.
- Yulihasti, E. 2011. *Variabilitas iklim Indonesia bulan April dan prediksi bulan Mei 2011*. LAPAN, Bandung: 14 hlm.
- Zacchi, L. & A. Vaughan-Martini. 2002. Yeast associated with insect in agricultural areas of Perugia, Italy. *Ann. Microbiol* **52**: 237--244.
- Zahra, A. & M. Talal. 2008. Impact of pollen supplement and vitamins on the development of hypopharyngeal glands and on brood area in honey bees. *Journal of Apicultural Science* **2** (52): 5--11.

Lampiran 1. Tingkat konsumsi lebah madu *A. cerana* terhadap PSA (tepung kedelai + susu skim + biomassa kahmir *C. hawaiiiana* CR015 + madu asli)

No.	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Tingkat konsumsi (g)	Presentase konsumsi (%)	Keterangan
1	6.4	6.2	0.2	3.13	Tidak disukai
2	5.6	5.2	0.4	7.14	Tidak disukai
3	6.4	5.9	0.5	7.81	Tidak disukai
4	6.5	5.8	0.7	10.77	Tidak disukai
5	6.9	6.1	0.8	11.59	Tidak disukai
6	5.9	5	0.9	15.25	Tidak disukai
7	6.4	5.4	1	15.63	Tidak disukai
8	6.4	5.2	1.2	18.75	Tidak disukai
9	6.3	4.6	1.7	26.98	Kurang disukai
10	6.5	4.7	1.8	27.69	Kurang disukai
11	7.2	4.7	2.5	34.72	Kurang disukai
12	6.5	3.6	2.9	44.62	Kurang disukai
13	6.5	3.6	2.9	44.62	Kurang disukai
14	6.8	3.7	3.1	45.59	Kurang disukai
15	6.7	3.6	3.1	46.27	Kurang disukai
16	7.5	3.9	3.6	48.00	Kurang disukai
17	7.4	3.8	3.6	48.65	Kurang disukai
18	7.6	3.8	3.8	50.00	Kurang disukai
19	7.2	3.6	3.6	50.00	Kurang disukai
20	6.8	3.3	3.5	51.47	Disukai
21	6.4	3.1	3.3	51.56	Disukai
22	6.7	3.2	3.5	52.24	Disukai
23	7.7	3.6	4.1	53.25	Disukai
24	5.5	2.5	3	54.55	Disukai
25	6.4	2.9	3.5	54.69	Disukai
26	6.3	2.8	3.5	55.56	Disukai
27	6.3	2.7	3.6	57.14	Disukai
28	6.6	2.6	4	60.61	Disukai
29	7.1	2.7	4.4	61.97	Disukai
30	6.8	2.3	4.5	66.18	Disukai
31	7.4	2.3	5.1	68.92	Disukai
32	7.2	2.2	5	69.44	Disukai
33	6.3	1.9	4.4	69.84	Disukai
34	7.3	2	5.3	72.60	Disukai
35	7.2	1.9	5.3	73.61	Disukai
36	6.4	1.6	4.8	75.00	Disukai

(Lanjutan.....)

No.	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Tingkat konsumsi (g)	Presentase konsumsi (%)	Keterangan
37	6.6	1.5	5.1	77.27	Sangat disukai
38	6.1	1.3	4.8	78.69	Sangat disukai
39	7.1	1.3	5.8	81.69	Sangat disukai
40	6.1	1	5.1	83.61	Sangat disukai
41	6.4	0.8	5.6	87.50	Sangat disukai
42	6.9	0.8	6.1	88.41	Sangat disukai
43	7.4	0.7	6.7	90.54	Sangat disukai
44	6.5	0.6	5.9	90.77	Sangat disukai
45	6.1	0.3	5.8	95.08	Sangat disukai
46	6.4	0.3	6.1	95.31	Sangat disukai
47	6.2	0.2	6	96.77	Sangat disukai
48	6.7	0.2	6.5	97.01	Sangat disukai

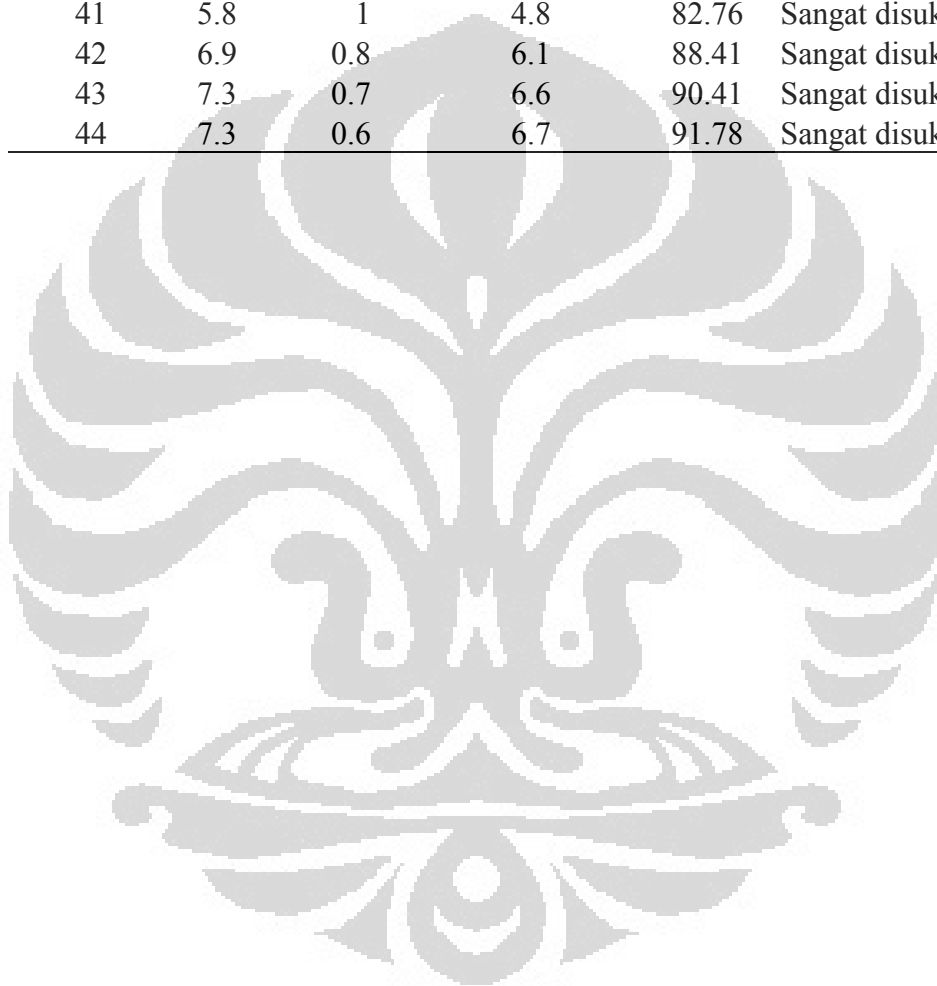


Lampiran 2. Tingkat konsumsi lebah madu *A. cerana* terhadap PSB (tepung kedelai + susu skim + sirup gula 50%)

No.	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Tingkat konsumsi (g)	Presentase konsumsi (%)	Keterangan
1	7.5	7	0.5	6.67	Tidak disukai
2	6.7	5.9	0.8	11.94	Tidak disukai
3	6.7	5.8	0.9	13.43	Tidak disukai
4	6.6	5.7	0.9	13.64	Tidak disukai
5	7.4	6.3	1.1	14.86	Tidak disukai
6	7.1	6	1.1	15.49	Tidak disukai
7	8	6.7	1.3	16.25	Tidak disukai
8	6.9	5.7	1.2	17.39	Tidak disukai
9	6.3	5.2	1.1	17.46	Tidak disukai
10	6.7	5.5	1.2	17.91	Tidak disukai
11	5.9	4.8	1.1	18.64	Tidak disukai
12	7.3	5.9	1.4	19.18	Tidak disukai
13	8.1	6.5	1.6	19.75	Tidak disukai
14	6.7	5.3	1.4	20.90	Tidak disukai
15	7.9	6.2	1.7	21.52	Tidak disukai
16	6.9	5.4	1.5	21.74	Tidak disukai
17	6.9	5.4	1.5	21.74	Tidak disukai
18	8	6.2	1.8	22.50	Tidak disukai
19	7.4	5.7	1.7	22.97	Tidak disukai
20	7.8	6	1.8	23.08	Tidak disukai
21	8.1	6.2	1.9	23.46	Tidak disukai
22	8.1	6.2	1.9	23.46	Tidak disukai
23	7.5	5.7	1.8	24.00	Tidak disukai
24	5.8	4.4	1.4	24.14	Tidak disukai
25	7	5.3	1.7	24.29	Tidak disukai
26	7.6	5.7	1.9	25.00	Tidak disukai
27	7.5	5.5	2	26.67	Kurang disukai
28	6.6	4.8	1.8	27.27	Kurang disukai
29	7.7	5.6	2.1	27.27	Kurang disukai
30	7.4	5.2	2.2	29.73	Kurang disukai
31	7.5	5	2.5	33.33	Kurang disukai
32	7.8	5.2	2.6	33.33	Kurang disukai
33	7.2	3.7	3.5	48.61	Kurang disukai
34	6.6	3.2	3.4	51.52	Disukai
35	12.9	5.6	7.3	56.59	Disukai
36	7.3	3	4.3	58.90	Disukai

(Lanjutan.....)

No.	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Tingkat konsumsi (g)	Presentase konsumsi (%)	Keterangan
37	7.3	2.9	4.4	60.27	Disukai
38	8.2	3.2	5	60.98	Disukai
39	8.5	3.1	5.4	63.53	Disukai
40	6.4	1.6	4.8	75.00	Disukai
41	5.8	1	4.8	82.76	Sangat disukai
42	6.9	0.8	6.1	88.41	Sangat disukai
43	7.3	0.7	6.6	90.41	Sangat disukai
44	7.3	0.6	6.7	91.78	Sangat disukai



Lampiran 3. Tingkat konsumsi lebah madu *A. cerana* terhadap PSC (tepung kedelai + susu skim + madu asli)

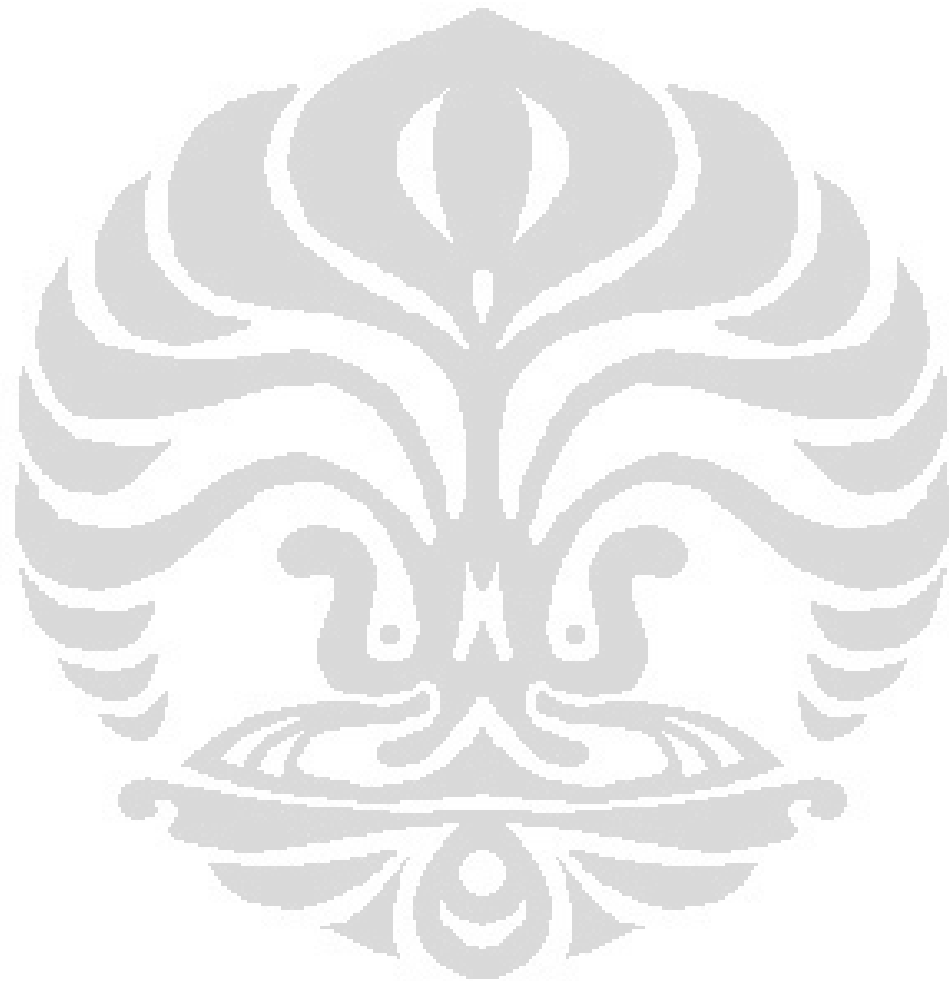
No.	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Tingkat konsumsi (g)	Presentase konsumsi (%)	Keterangan
1	6.1	5.7	0.4	6.56	Tidak disukai
2	6.4	5.7	0.7	10.94	Tidak disukai
3	6.5	5.7	0.8	12.31	Tidak disukai
4	7	6.1	0.9	12.86	Tidak disukai
5	7.2	6.2	1	13.89	Tidak disukai
6	7.1	6.1	1	14.08	Tidak disukai
7	6.9	5.8	1.1	15.94	Tidak disukai
8	6.1	4.8	1.3	21.31	Tidak disukai
9	7.3	5.7	1.6	21.92	Tidak disukai
10	7.2	5.2	2	27.78	Kurang disukai
11	5.8	4.1	1.7	29.31	Kurang disukai
12	6	4.2	1.8	30.00	Kurang disukai
13	7.1	4.4	2.7	38.03	Kurang disukai
14	8	4.9	3.1	38.75	Kurang disukai
15	7.8	4.6	3.2	41.03	Kurang disukai
16	8.2	4.7	3.5	42.68	Kurang disukai
17	7.4	4.2	3.2	43.24	Kurang disukai
18	7.3	4.1	3.2	43.84	Kurang disukai
19	6.6	3.6	3	45.45	Kurang disukai
20	7.2	3.9	3.3	45.83	Kurang disukai
21	7.5	4	3.5	46.67	Kurang disukai
22	7.3	3.8	3.5	47.95	Kurang disukai
23	6.9	3.5	3.4	49.28	Kurang disukai
24	7.2	3.6	3.6	50.00	Kurang disukai
25	6.6	2.9	3.7	56.06	Disukai
26	8	3.3	4.7	58.75	Disukai
27	7.1	2.9	4.2	59.15	Disukai
28	7.4	3	4.4	59.46	Disukai
29	7.4	3	4.4	59.46	Disukai
30	7.7	3.1	4.6	59.74	Disukai
31	7.5	3	4.5	60.00	Disukai
32	7.2	2.8	4.4	61.11	Disukai
33	6.5	2.4	4.1	63.08	Disukai
34	6.3	2.3	4	63.49	Disukai
35	8	2.9	5.1	63.75	Disukai
36	7.7	2.6	5.1	66.23	Disukai

(Lanjutan.....)

No.	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Tingkat konsumsi (g)	Presentase konsumsi (%)	Keterangan
37	6.3	2.1	4.2	66.67	Disukai
38	7.2	2.3	4.9	68.06	Disukai
39	8.1	2.4	5.7	70.37	Disukai
40	7.7	2.1	5.6	72.73	Disukai
41	7	1.9	5.1	72.86	Disukai
42	7.5	2	5.5	73.33	Disukai
43	6.4	1.7	4.7	73.44	Disukai
44	7.1	1.6	5.5	77.46	Sangat disukai
45	6.9	1.4	5.5	79.71	Sangat disukai
46	7.5	1.3	6.2	82.67	Sangat disukai
47	7	0.8	6.2	88.57	Sangat disukai
48	7.1	0.8	6.3	88.73	Sangat disukai
49	7.3	0.8	6.5	89.04	Sangat disukai
50	7.2	0.7	6.5	90.28	Sangat disukai

Lampiran 4. Pengamatan suhu, kelembapan, dan cuaca dari tanggal 9--29 April 2011

Hari	Tanggal	Pagi 08.00			Siang 12.00			Sore 16.00		
		Suhu	Kelembaban	Cuaca	Suhu	Kelembaban	Cuaca	Suhu	Kelembaban	Cuaca
0	9							27	79	Berawan
1	10	25	81	Berawan	28.5	69	Cerah	24	84	Hujan Ringan
2	11	25	84	Berawan	26	73	Berawan	21	100	Hujan Ringan
3	12	25	89	Berawan	26	77	Cerah	25	87	Mendung
4	13	24	91	Cerah	26	77	Cerah	24	94	Mendung
5	14	24	89	Cerah	20	100	Hujan Ringan	22	100	Mendung
6	15	22	87	Berawan	25	80	Mendung	25	94	Mendung
7	16	26	74	Cerah	28	72	Cerah	23	98	Hujan Ringan
8	17	22	95	Cerah	25	72	Cerah	26	89	Mendung
9	18	24	80	Cerah	27	75	Berawan	22	100	Hujan Ringan
10	19	23	95	Cerah	22	94	Hujan Ringan	23	91	Berawan
11	20	22.5	92	Berawan	26	77	Mendung	23	94	Hujan Ringan
12	21	21	100	Hujan Ringan	24	90	Cerah	24	94	Mendung
13	22	23	91.5	Cerah	25	85.5	Mendung	23	98	Hujan Ringan
14	23	23	95	Cerah	26	86	Berawan	24	96	Mendung
15	24	23.5	95	Mendung	24	90	Mendung	22	95	Mendung
16	25	23	94	Cerah	26	83	Berawan	23	98	Mendung
17	26	24	89	Berawan	25	87	Berawan	21	100	Hujan Ringan
18	27	24	96	Berawan	23	92	Hujan Ringan	21	100	Hujan Ringan
19	28	25	83	Cerah	27	79	Mendung	24	88	Mendung
20	29	23	90	Cerah	28	72	Cerah	26	87	Mendung



Lampiran 5. Hasil analisis statistik dengan uji Anova dan Uji Tukey menggunakan SPSS 16.

Oneway

Notes		
Output Created		05-Nov-2011 13:23:46
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet0
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	142
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on cases with no missing data for any variable in the analysis.
Syntax		ONEWAY konsumsi BY jenis /STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY /MISSING ANALYSIS /POSTHOC=TUKEY BONFERRONI ALPHA(0.05).
Resources	Processor Time	00:00:00.015
	Elapsed Time	00:00:00.017

Descriptives

Konsumsi

(%)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
PSA	48	55.5935	26.85878	3.87673	47.7946	63.3925	3.13	97.01
PSB	44	34.2675	23.52570	3.54663	27.1150	41.4200	6.67	91.78
PSC	50	50.3970	24.22680	3.42619	43.5118	57.2822	6.00	90.28
Total	142	47.1557	26.32524	2.20917	42.7883	51.5231	3.13	97.01

Test of Homogeneity of Variances

Konsumsi (%)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.348	2	139	.707

ANOVA

Konsumsi (%)	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11251.416	2	5625.708	9.044	.000
Within Groups	86464.190	139	622.045		
Total	97715.606	141			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable:konsumsi

	(I) jenis	(J) jenis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	PSA	PSB	21.32604*	5.20544	.000	8.9939	33.6582
		PSC	5.19654	5.03986	.559	-6.7433	17.1364
	PSB	PSA	-21.32604*	5.20544	.000	-33.6582	-8.9939
		PSC	-16.12950*	5.15541	.006	-28.3431	-3.9159
	PSC	PSA	-5.19654	5.03986	.559	-17.1364	6.7433
		PSB	16.12950*	5.15541	.006	3.9159	28.3431
Bonferroni	PSA	PSB	21.32604*	5.20544	.000	8.7117	33.9404
		PSC	5.19654	5.03986	.913	-7.0165	17.4096
	PSB	PSA	-21.32604*	5.20544	.000	-33.9404	-8.7117
		PSC	-16.12950*	5.15541	.006	-28.6226	-3.6364
	PSC	PSA	-5.19654	5.03986	.913	-17.4096	7.0165
		PSB	16.12950*	5.15541	.006	3.6364	28.6226

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

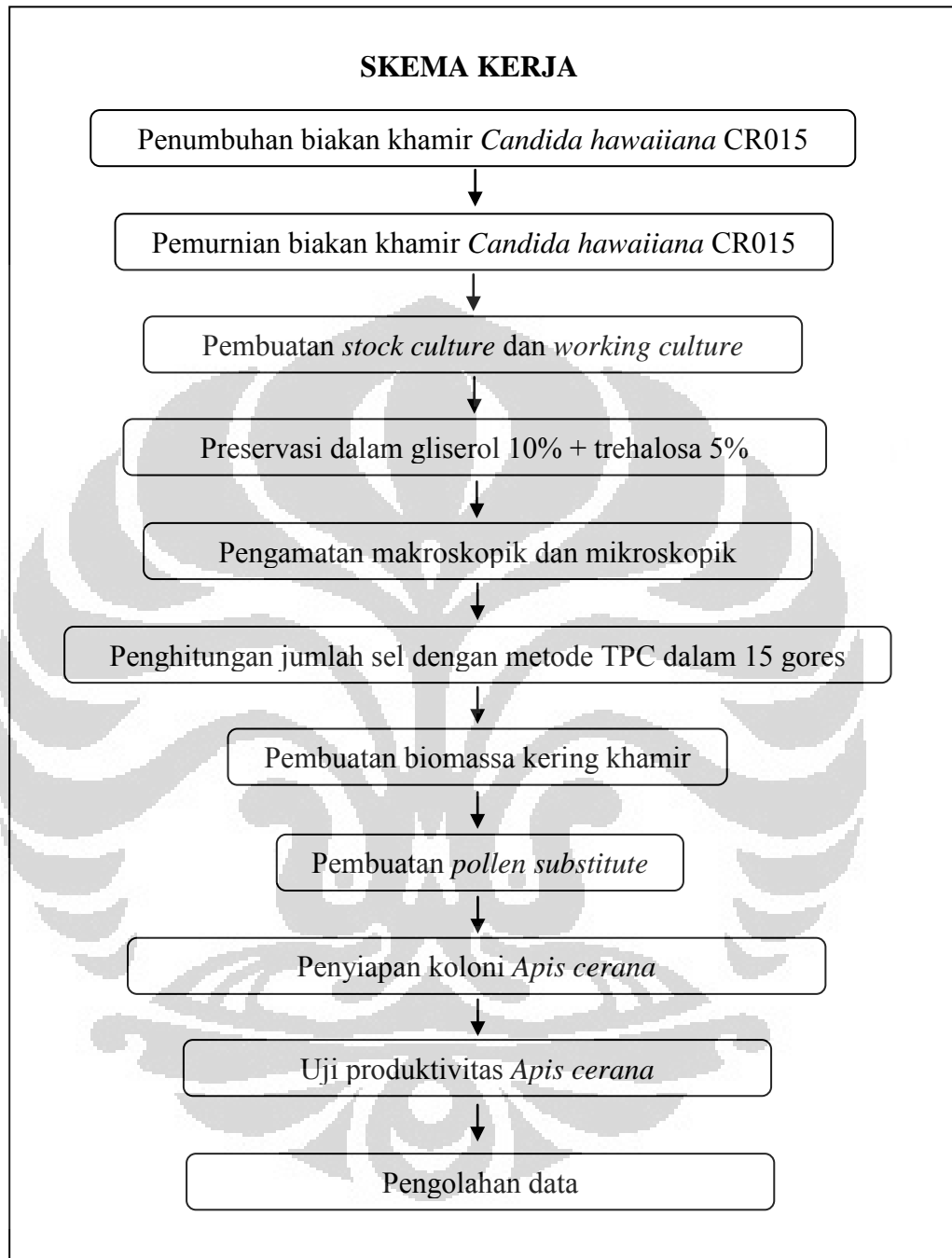
Konsumsi (%)

jenis	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Tukey HSD ^a	PSB	44	34.2675
	PSC	50	50.3970
	PSA	48	55.5935
	Sig.		1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 47,199.

Lampiran 6. Skema kerja penelitian



Lampiran 7. (a) Skema pembuatan biomassa khamir *C. hawaiiiana* CR015 dan (b) skema pembuatan pasta *pollen substitute*.

