

PENGARUH MADU TRIGONA (*TETRAGONULA BIROI*) SEBAGAI SUPLEMEN ANTI OBESITAS TERHADAP JUMLAH *LACTOBACILLUS Sp.*, *BIFIDOBACTERIUM Sp.*, *CLOSTRIDIUM LEPTUM*, *ESCHERICHIA COLI*, *TOTAL BAKTERI*, INDEKS ANTROPOMETRI DAN PROFIL LIPID PADA SUBJEK DENGAN OBESITAS

THE EFFECT OF HONEY TRIGONA (*TETRAGONULA BIROI*) AS ANTI OBESITY SUPPLEMENT ON THE NUMBER OF *LACTOBACILLUS Sp.*, *BIFIDOBACTERIUM Sp.*, *CLOSTRIDIUM LEPTUM*, *ESCHERICHIA COLI*, *TOTAL BACTERIA*, *BIFIDOBACTERIUM Sp.*, *CLOSTRIDIUM LEPTUM*, *ESCHERICHIA COLI*, *TOTAL BACTERIA*, INDEX P ANTROPOMETRIC ANTROPOMETRIC

**ANDI SITTI RAHMA
C01319016**



**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

DISERTASI

PENGARUH MADU TRIGONA (*TETRAGONULA BIROI*) SEBAGAI SUPLEMEN ANTI OBESITAS TERHADAP JUMLAH *LACTOBACILLUS SP.*, *BIFIDOBACTERIUM SP.*, *CLOSTRIDIUM LEPTUM*, *ESCHERICHIA COLI*, TOTAL BAKTERI, INDEKS ANTROPOMETRI DAN PROFIL LIPID PADA SUBJEK DENGAN OBESITAS

THE EFFECT OF TRIGONA HONEY (*TETRAGONULA BIROI*) AS ANTI OBESITY SUPPLEMENT ON THE NUMBER OF *LACTOBACILLUS Sp.*, *BIFIDOBACTERIUM Sp.*, *CLOSTRIDIUM LEPTUM*, *ESCHERICHIA COLI*, TOTAL BACTERIA, ANTHROPOMETRIC INDEX AND LIPID PROFILE IN OBESE SUBJECTS

Disusun dan diajukan
Oleh

Andi Sitti Rahma
C013191016

Telah dipertahankan di hadapan Penilai Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal, 23 Agustus 2022 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui
Promotor,


Prof. dr. Veni Hadiu, M.Sc, Ph.D
Nip. 19620318 198803 1 004

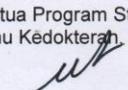
Co. Promotor


dr. Agussalim Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK(K)
Nip. 19700821 199903 1 001

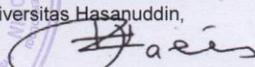
Co. Promotor


dr. Firdaus Hamid, Ph.D, Sp.MK
Nip. 19771231 200212 1 002

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran


Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
Nip.19671103 199802 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,


Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK
Nip.19680530 199603 2 001

ABSTRAK

ANDI SITI RAHMA. Pengaruh Madu *Trigona (Tetragonula Biroi)* sebagai Suplemen Antiobesitas terhadap Jumlah *Lactobacillus Sp. Bifidobacterium Sp. Escherichia Coli Total Clostridium Leptum* Subjek Total Bacteria Indikator Obesitas dan Profil Lipid pada Subjek dengan Obesitas (dibimbing oleh Veni Hadju, Agussalim Bukhari Firdaus Hamid).

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh madu trigona sebagai suplemen obesitas terhadap jumlah mikrobiota usus, indikator obesitas dan profil lipid subjek dengan obesitas. Obesitas dengan segala dampak negatifnya terus mengalami peningkatan mikrobiota usus merupakan salah satu faktor yang memengaruhi terjadinya obesitas, dan madu trigona dengan kandungan polifenol yang tinggi bisa digunakan sebagai suplemen anti obesitas

Sebanyak 34 responden dibagi menjadi 2 kelompok, yakni kelompok perlakuan 16 orang diberikan madu trigona sebanyak 2x35 gram sehari selama 8 minggu, dan kelompok kontrol 18 orang diberikan placebo madu. Jumlah mikrobiota dilakukan dengan RT PCR di Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin, persentase lemak menggunakan Body Composition Monitor merk Tanita, pengukuran profil lipid dilakukan oleh Laboratorium Parahita Makassar. Seluruh pengukuran dilakukan di awal dan akhir penelitian.

Hasil penelitian ini didapatkan pada kelompok perlakuan terjadi penurunan lingkar perut ($p < 0.05$) sebesar 3.19 cm, peningkatan rasio *Bifidobacterium sp./total bakteri* ($p < 0.05$) disertai penurunan jumlah *Clostridium leptum* ($p < 0.05$), rasio *Lactobacillus sp/total bakteri* dan rasio *escherichia coli/total bakteri* cenderung meningkat, sedangkan kadar LDL kolesterol cenderung menurun. Persentase lemak visceral menurun pada kelompok perlakuan dan meningkat pada kelompok kontrol. Madu trigona baik digunakan sebagai suplemen antiobesitas karena dapat menurunkan lingkar perut, mencegah peningkatan persentase lemak visceral, meningkatkan rasio *Bifidobacterium sp./total bakteri*, menurunkan jumlah *Clostridium leptum*, cenderung meningkatkan rasio *Lactobacillus sp/total bakteri* dan rasio *Escherichia coli/total bakteri*, cenderung menurunkan kadar LDL kolesterol dan mencegah peningkatan kadar kolesterol total subjek dengan obesitas. Madu trigona tidak memengaruhi peningkatan berat badan, penurunan lemak tubuh total dan kadar trigliserida.

Kata kunci: Obesitas, Madu Trigona, Madu *Stingless bee*, Mikrobiota Usus, Profil Lipid, Obesitas



ABSTRACT

ANDI SITTI RAHMA. *The Effect of Honey Trigona (Tetragonula Biroi) as Antiobesity Supplement on The Total of Lactobacillus Sp., Bifidobacterium Sp., Clostridium Leptum, Escherichia Coli, Total Bacterility, Indicators of Obesipady and Lipid Profile in Subjects with Obesity (Supervised by Veni Hadju, Agussalim Bukhari, and Firdaus Hamid)*

The purpose of this study is to determine the effect of trigona honey as an obesity supplement on the number of gut microbiota, obesity indicators and lipid profiles of obese subjects. Obesity with all its negative effects continues to increase. Intestinal microbiota is one of the factors that influence obesity, and trigona honey with high polyphenol content can be used as an anti-obesity supplement.

A total of 34 respondents were divided into 2 groups, namely the treatment group 16 people were given Trigona honey as much as 2 x 35 grams a day for 8 weeks, and the control group 18 people were given a placebo honey. The number of microbiota was carried out by RT PCR at the Hasanuddin University Teaching Hospital, the percentage of fat using the Tanita Brand Body Composition Monitor, lipid profile measurements were carried out by the Parahita Laboratory Makassar. All measurements were carried out at the beginning and end of the study.

The results of this study show that in treatment group there is a decrease in abdominal circumference ($p < 0.05$) by 3.19 cm, an increase in the ratio of Bifidobacterium sp./total bacteria ($p < 0.05$) accompanied by a decrease in the number of Clostridium leptum ($p < 0.05$), the ration of Lactobacillus sp./total bacteria, and the ratio of Escherichia coli/total bacteria tends to increase, while LDL cholesterol levels tend to decrease. The percentage of visceral fat decreases in the treatment group and increases in the control group.

Trigona honey is good to use as an anti-obesity supplement because it can reduce abdominal circumference, prevent an increase in the percentage of visceral fat, increase the ratio of bifidobacterium sp./total bacteria, reduce the number of Clostridium leptum, tend to increase the ratio of Lactobacillus sp./total bacteria and the ratio of Escherichia coli/total bacteria, tend to increase the ratio of Lactobacillus sp./total bacteria and the ratio of Escherichia coli/total bacteria, reduce LDL cholesterol levels and prevent an increase in total cholesterol levels in obese subjects. Trigona honey does not affect weight gain and decreases in total body fat, and triglyceride levels.

Keywords: Trigona honey, stingless bee honey, gut microbiota, lipid profile, obesity





KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN
Jl. Perintis Kemerdekaan Kampus Tamalanrea Km. 10 Makassar 90245
Telp. (0411) 586010, 585836, 586200 Psw. 2767 Fax. (0411) 586297

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : **Andi Sitti Rahma**
Nomor Pokok : C013191016
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulis saya berjudul : **Pengaruh Madu Trigona (*Tetragonula Biroi*) Sebagai Suplemen Antiobesitas Terhadap Jumlah *Lactobacillus Sp.*, *Bifidobacterium Sp.*, *Clostridium Leptum*, *Escherichia Coli*, Total Bakteri, Indeks Antropometri Dan Profil Lipid Pada Subjek Dengan Obesitas**

Adalah karya tulis saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa

Disertasi yang saya tulis ini benar- benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 18 Agustus 2022
Yang menyatakan,



Andi Sitti Rahma
Andi Sitti Rahma

PRAKATA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat, nikmat kesempatan dan kesehatan serta karuniaNya sehingga dapat menyelesaikan penulisan disertasi dengan judul **“Pengaruh Madu Trigona (*Tetragonula Biroi*) Sebagai Suplemen Antiobesitas Terhadap Jumlah *Lactobacillus Sp.*, *Bifidobacterium Sp.*, *Clostridium Leptum*, *Escherichia Coli*, Total Bakteri, Indeks Antropometri Dan Profil Lipid Pada Subjek Dengan Obesitas**

Disertasi ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar Doktor di Universitas Hasanuddin, Program Studi Ilmu kedokteran.

Selesainya penulisan disertasi ini berkat bantuan berbagai pihak, sehingga penulis ingin menyampaikan rasa hormat, terimakasih dan penghargaan yang tak terhingga pada **Prof. dr. Veni Hadju, M.Sc, Ph.D** sebagai Promotor, **dr. Agussalim Bukhari, M.Med, Ph.D, Sp.GK(K)** dan **dr. Firdaus Hamid, Ph.D, Sp.MK** sebagai Ko-Promotor yang telah banyak memberikan inspirasi, membantu mengatasi masalah, memberikan bimbingan dan motivasi sampai penulis dapat menyelesaikan disertasi ini.

Terima kasih juga kepada tim penguji eksternal, **drh. Safarina Malik, Ph.D** dan tim penguji internal, **Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok**, **dr. Aminuddin, M.Nut & Diet, Ph.D, Sp.GK**, **Dr. dr. Himawan Sanusi, Sp.PD-KEMD**, **Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS**, **Dr. dr. Andi Armyun Nurdin, M.Sc** yang senantiasa membimbing memberikan saran dan masukan yang sangat berarti dalam penyusunan dan penulisan disertasi ini mulai dari penyempurnaan judul, memberi dukungan dalam penelitian ini, serta bersedia meluangkan waktu untuk berdiskusi.

Di kesempatan ini penulis juga menyampaikan ucapan terimakasih yang sangat dalam sebagai wujud penghargaan yang tulus kepada kedua orang tua tercinta ayahanda Ir. H. Suaib Gani (Alm) dan Ir. Hj. Andi Chaeruni Muhammad (alm.) semoga mereka mendapat tempat yang mulia di sisi Allah SWT dan Ibunda Hj.Nur Qanaah yang selalu memberikan kasih sayang yang tulus dan dorongan semangat, bantuan dan doa selama ini kepada penulis. Kepada kakak dan adik terima kasih atas motivasi dan doanya kepada penulis. Terkhusus kepada **Ir.Andi Syahrial Muhammad M.Eng** (alm) yang selalu memberi semangat dan dukungan semasa hidupnya semoga beliau mendapat tempat yang mulia di sisi Allah SWT. Kepada dr. Asriani Sp.PD dan dr. Alifia Ayu Delima, M. Kes yang telah berjuang bersama mulai dari proses menjadi calon mahasiswa S3 ilmu kedokteran, serta kepada Dr. Ns. Sri Sulistyawati Anton, S. Kep., M. Kes. dan Dr. Ns. Wahyuningsih, S. Kep., M. Biomed. yang telah banyak membantu penulis.

Teristimewa kepada suami tercinta Hasbullahair Ashar, S.Si., M. Si., terima kasih yang tak terhingga atas segala kesabaran, semangat, motivasi dan dukungan moril dan material serta curahan do'a selama penulis menempuh pendidikan dan kepada anak kami tersayang Fathimah Az- Zahrah, Aisyah Muthmainnah, Aminah Mardhatillah dan Abdurrahman Hasbullah, terima kasih atas pengorbanannya,dukungan,pengertian dan do'a kalian selama ibu mengikuti pendidikan.

Terima kasih juga kepada staf dan laboran laboratorium riset kedokteran (*Hasanuddin University medical research centre*) RSPTN Universitas Hasanuddin, Laboratorium Kimia Makanan Ternak, Jurusan Nutrisi dan Makanan

Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu dalam proses penelitian.

Melalui kesempatan ini juga penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang setinggi-tingginya kepada :

1. **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc** selaku Rektor yang telah memberikan kesempatan kepada peneliti untuk mengikuti Pendidikan di Universitas Hasanuddin Makassar.
2. **Prof. Dr. Haerani Rasyid, Sp. PD. KGH., Sp. GK., M.Kes** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.
3. **Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes** selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar
4. Direktur Jenderal Direktur Pendidikan Tinggi Keagamaan Islam Negeri yang telah memberikan izin tugas belajar kepada penulis untuk mengikuti Pendidikan program S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin.
5. Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar dan Rektor UIN Alauddin Makassar yang telah memberikan rekomendasi sehingga mendapatkan izin tugas belajar dan mengikuti Pendidikan di S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin
6. Seluruh Dosen pengajar S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar yang telah banyak memberikan bekal ilmu kepada mahasiswa S3 Ilmu Kedokteran khususnya kepada peneliti sendiri, semoga ilmunya menjadi amal Jariah. Aamiin
7. Staf dan pengelola S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin, Bapak Akmal, Bapak Abd. Muin dan Bapak Rahmat yang senantiasa memberikan bantuan kepada peneliti selama proses perkuliahan.
8. Teman-teman dosen dan staf Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, terima kasih atas dorongan, dukungan dan do'a selama peneliti mengikuti masa studi Doktor di Universitas Hasanuddin Makassar
9. Teman-teman seperjuangan angkatan 2019, terima kasih atas solidaritas, motivasi dan doanya, semoga kita semua bisa menyelesaikan study ini dengan lancar dan mendapatkan ilmu yang berkah.
10. Semua pihak yang telah ikut membantu dalam kelancaran penulisan disertasi ini Tiada kata yang dapat kami ucapkan selain ungkapan terimakasih yang tak terhingga serta do'a kepada Allah SWT, semoga seluruh bantuan simpati dan do'a yang disampaikan untuk penulis mendapat balasan dan pahala yang berlipat dari yang Maha kuasa Semoga disertasi ini dapat bermanfaat bagi semua masyarakat, Aamiin.

Makassar, 23 Agustus 2022
Penulis

Andi Sitti Rahma

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Obesitas merupakan penumpukan lemak yang berlebihan pada tubuh, akibat ketidakseimbangan antara asupan energi (*energy intake*) dan energi yang digunakan (*energy expenditure*) dalam waktu lama, ditentukan melalui pengukuran antropometri. Seseorang dikategorikan sebagai obese jika Indeks Massa Tubuh (IMT) berada lebih dari 25 kg/m² dan atau jika Lingkar Pinggang (LP) berada lebih dari 80 cm bagi perempuan dan 90 cm bagi laki-laki (WHO, 2000).

Prevalensi obesitas baik di dunia maupun di Indonesia masih cukup tinggi. Di Amerika Serikat meningkat dari 49.0 ± 0.8% pada tahun 2001 menjadi 58.4 ± 1.7% pada tahun 2016 (D. Shin et al., 2018), Indonesia termasuk ke dalam urutan 10 negara dengan jumlah kasus obesitas terbanyak yaitu 15,1 juta penduduk (Masrul, 2018), dan kasus ini terus mengalami peningkatan. Proporsi berat badan lebih di Indonesia meningkat dari 11,5 pada tahun 2013 menjadi 13,6 pada tahun 2018, dan proporsi obesitas meningkat dari 14,8 pada tahun 2013 menjadi 21,4 pada tahun 2018. Kejadian obesitas sentral di Indonesia meningkat mulai dari 18,8% pada tahun 2007, kemudian meningkat 26,6% pada 2013 dan pada

tahun 2018 meningkat menjadi 31%. (Kementerian Kesehatan RI Badan Penelitian dan Pengembangan, 2018)

Obesitas memiliki banyak dampak negatif bagi kesehatan. Obesitas selain terkait dengan penyakit metabolik seperti resistensi insulin, diabetes mellitus, sindrom metabolik, juga erat kaitannya dengan resiko kardiovaskuler seperti hipertensi, arteriosklerosis dan penyakit jantung koroner. (Csige et al., 2018). Pada orang obese, terjadi peningkatan sitokin inflamasi seperti TNF- α , IL-6, *C-Reactive Protein* yang akan meningkatkan resiko infark miokard, diabetes mellitus dan penyakit vaskuler lainnya. (Csige et al., 2018)

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mencegah dan mengatasi masalah obesitas dimulai dari masalah komunitas seperti gaya hidup dan pola makan untuk menyeimbangkan antara asupan dan pengeluaran energi, hingga ke bidang biomolekuler untuk mengatasi obesitas misalnya melalui dengan teori antioksidan, antiinflamasi dan mikrobiota usus. Salah satu teori yang sedang berkembang tentang mekanisme terjadinya obesitas adalah adanya gangguan pada keseimbangan mikrobiota usus, dimana peran mikrobiota usus terhadap kejadian obesitas dapat melalui beberapa mekanisme yaitu melalui jalur metabolik, inflamasi dan hormonal. Jalur metabolik dengan peningkatan produksi *Short-Chain Fatty Acid* (SCFA), perubahan metabolisme asam empedu dan FXR/TGR5 signaling, jalur inflamasi dengan peningkatan lipopolisakarida (LPS) dan *endocannabinoid* (eCB) *system* yang mengatur metabolisme dan rasa

lapar melalui axis mikrobiota-usus-otak serta jalur hormonal yaitu penekanan f1af, peningkatan Peptide YY (PYY), dan ekspresi dari G *protein coupled receptors* (GPCRs). (Susmiati, 2019)

Madu mengandung berbagai nutrisi yang dibutuhkan oleh tubuh, termasuk komponen prebiotik dan probiotik yang berperan pada perkembangan mikrobiota usus dan bermanfaat bagi kesehatan. Sebagai prebiotik, madu mengandung karbohidrat dengan jenis oligosakarida yang dapat meningkatkan kesehatan pencernaan dengan merangsang pertumbuhan bakteri baik (*Bifidobacterium sp.* dalam makanan susu fermentasi) di usus besar. Madu mengandung jumlah oligosakarida yang lebih tinggi menghasilkan pertumbuhan bakteri menguntungkan dalam jumlah besar (ChandranC et al., 2016). Oligosakarida merupakan jenis karbohidrat yang tidak dapat dicerna yang terdapat dalam madu dan berperan sebagai prebiotik terhadap pertumbuhan *Lactobacillus sp.* dan *Bifidobacterium sp.* (Mohan et al., 2017). Penelitian yang dilakukan secara in vitro dan in vivo pada tikus menyimpulkan bahwa madu menyebabkan peningkatan jumlah bakteri asam laktat secara signifikan jika dibandingkan dengan sukrosa (Shamala et al., 2000). Madu mendukung pertumbuhan beberapa strain *Lactobacillus sp* dan *Streptococcus thermophilus* (Chick et al., 2001). (Ismail, 2017). Penelitian oleh De Melo menemukan adanya aktivitas prebiotik pada madu *stingless bee* Brazil yang mendukung pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium lactis* (de Melo et al., 2020). Madu mengandung polifenol

dan berbagai jenis karbohidrat, di antaranya 4 jenis oligosakarida yang mendukung pertumbuhan *Bifidobacterium sp.* (Jiang et al., 2020).

Madu juga bisa berperan sebagai probiotik. Beberapa penelitian membuktikan madu mengandung beberapa bakteri yang menguntungkan. Penelitian oleh Lashani menemukan adanya *Lactobacillus sp.* yang berhasil diisolasi dari madu (Lashani et al., 2020), dan beberapa bakteri asam laktat termasuk *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus pentosus* terdapat dalam madu apis mellifera (Feizabadi et al., 2020).

Lactobacillus sp. merupakan mikrobiota usus bagian dari phylum *Firmicutes* yang sering digunakan sebagai anti obesitas. Beberapa strain *Lactobacillus sp.* yang sering digunakan untuk modulasi probiotik guna mencegah penyakit antara lain *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, dan *Lactobacillus helveticus*. (Azad et al., 2018). Pemberian *Lactobacillus plantarum* secara signifikan meningkatkan rasio *Bacteroidetes sp.* dan *Firmicutes sp.* dengan cara menurunkan jumlah *Firmicutes sp.* secara signifikan pada tikus yang diberi makanan tinggi lemak sehingga efektif dalam mengurangi obesitas (Hussain et al., 2020). *Lactobacillus sakei* pada Kimchi berhasil menurunkan massa lemak tubuh secara signifikan pada orang dewasa dengan IMT ≥ 25 kg/m² (Lim et al., 2020). Penelitian Li Han Cen pada tahun 2018 menemukan bahwa *L.reuterii* memperbaiki fenomena obesitas, kadar proinflamasi serum dan kadar antioksidan. (Chen et al.,

2018). Penelitian lain menemukan bahwa strain *L. reuterii* mengurangi penyerapan lemak pada makanan (Chung et al., 2016).

Bifidobacterium sp. merupakan salah satu strain dari mikrobiota usus yang juga sering digunakan sebagai modulasi diet untuk mengatasi obesitas. Penelitian oleh Salazar menyimpulkan bahwa *Bifidobacterium sp.* menghasilkan eksopolisakarida (EPS) yang menguntungkan untuk melawan obesitas dengan memodulasi komposisi mikrobiota usus, metabolisme lipid dan glukosa (Salazar et al., 2019) *Bifidobacterium pseudolongum* menurunkan trigliserida pada tikus obese, meningkatkan kolonisasi bakteri usus yang baik sehingga berpotensi digunakan sebagai terapi obesitas (Bo et al., 2020). *Bifidobacterium longum* inaktifasi yang diberikan secara oral selama 5 minggu berhasil menurunkan berat badan, trigliserida, kolesterol dan massa jaringan lemak pada tikus obese (Ben Othman & Sakamoto, 2020).

Clostridium leptum berasal dari genus *Clostridium* dan phylum *Firmicutes* yang bisa ditemukan pada intestinal manusia dan mengalami peningkatan pada subjek dengan obesitas. Sebuah penelitian terhadap anak obese di Mexico menemukan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara jumlah *Clostridium leptum* anak obese dan anak dengan berat badan normal (Radilla-Vázquez et al., 2016). Sebuah penelitian retrospektif menyimpulkan bahwa infeksi *Clostridium difficile* lebih tinggi pada orang obese dibandingkan pada non obese (Bishara et al., 2013). Jumlah *Clostridium coccooides* pada orang obese dengan

sindrom metabolik lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol, dan berkorelasi positif dengan kadar triasilgliserol subjek obese. (Jamar et al., 2018)

Escherichia coli merupakan salah satu bakteri yang menghasilkan lipopolisakarida (LPS) yang akan merusak barrier usus dan menyebabkan terjadinya inflamasi level rendah dan menyebabkan terjadinya endotoksemia metabolik. Namun jenis LPS yang ditemukan pada berbagai macam bakteri menentukan apakah endotoksemia metabolik yang menguntungkan atau merusak (Anhê et al., 2021). Penelitian menemukan bahwa jenis LPS yang berasal dari *E.coli* akan meningkatkan disglukemia, peradangan adiposa, menunda penyerapan glukosa di usus, meningkatkan sekresi insulin dan GLP-1, dan menurunkan glukosa darah, sedangkan LPS dengan dosis yang sama dari bakteri lain tidak memberikan efek demikian. LPS dari *E.coli* memiliki efek insulinogenik yang kuat sedangkan LPS dari bakteri lain memiliki efek insulinogenik yang jauh lebih rendah (Anhê et al., 2021)

Khasiat madu terhadap penanganan obesitas telah dibuktikan oleh banyak penelitian. Madu berhasil menurunkan berat badan secara signifikan pada tikus obese yang diberikan diet tinggi lemak, begitu pula dengan indeks adipitasnya seperti trigliserida, glukosa plasma, kolesterol, leptin plasma, resistin dan enzim hati mengalami penurunan. (Samat et al., 2017). Madu trigona dengan dosis 3x 35 gram diberikan selama 14 hari pada subjek obese, berhasil menurunkan kadar leptin

subjek obese (Natsir et al., 2020). Madu trigona menurunkan berat badan, trigliserida, dan LDL-kolesterol pada tikus obese dan meningkatkan HDL-kolesterol pada tikus obese (Mohd Rafie et al., 2018). Penelitian oleh Pai menyimpulkan madu baik digunakan sebagai antiobesitas dan anti hiperlipidemia karena dapat menurunkan berat badan, IMT, lingkar perut dan profil lipid pada subjek obese (Pai et al., 2018a)

Madu trigona merupakan salah satu potensi sumber daya yang dimiliki oleh Indonesia. Madu ini berasal dari lebah *Trigona sp.* atau *Meliponine sp.* atau biasa dikenal dengan *Kelulut* atau *Klanceng*, merupakan lebah berukuran kecil yang tidak menyengat. Indonesia memiliki sekitar 40 jenis lebah trigona dimana sebagian besar bisa dikembangkan sebagai lebah penghasil madu dan merupakan potensi ekonomi bagi masyarakat yang hidup di sekitar hutan. Budidaya lebah trigona juga membawa pesan edukasi bagi masyarakat peternak lebah agar menjaga kualitas lingkungan dan keragaman hayati dengan memelihara pohon dan melakukan pengayaan untuk ketersediaan pakan dan sumber material sarang. (Mata et al., 2020). Madu yang dihasilkan oleh lebah ini bersifat lebih cair, jernih dengan rasa manis dan asam (Yaacob et al., 2018).

Madu trigona mengandung berbagai nutrisi dan senyawa (terutama polifenol dan flavonoid) yang baik bagi kesehatan. Penelitian oleh Syamsul menyimpulkan kandungan polifenol dari madu trigona (*Tetragonula Biroi*) mengandung polifenol, flavonoid, alkaloid dan triterpenoid yang tinggi (Syamsul et al., 2020). Madu trigona (*Heterotigona*

itama) yang berasal dari 6 jenis tanaman berbeda mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang tinggi. (Ali, H., Bakar, A. M. F. Majid, M., Muhammad, N. and Lim, 2020). Kandungan total fenol madu trigona lebih tinggi dibandingkan madu apis (Kek et al., 2014)

Senyawa polifenol bukan saja berperan sebagai antioksidan, melainkan juga memengaruhi komposisi mikrobiota usus (Catalkaya et al., 2020). Puncak kelimpahan *Lactobacillus sp.* dan *Bifidobacterium sp.* yang menguntungkan bagi kesehatan, berada pada asupan polifenol 396 mg/hari dan 540 mg/hari (Ma & Chen, 2020) Guo meneliti polifenol yang terkandung dalam teh hijau ternyata mampu menjaga keseimbangan mikrobiota usus pada tikus obese (Guo et al., 2017). Peneliti lain mengemukakan polifenol yang diekstrak dari blueberry sebagai prebiotik potensial memengaruhi beberapa jenis mikrobiota usus termasuk *Bifidobacterium sp.* dan memberikan efek anti obesitas (Jiao et al., 2019). Polifenol yang terkandung pada anggur merah meningkatkan jumlah *Bifidobacterium sp.* dan *Lactobacillus sp.* subjek obese (Moreno-Indias et al., 2016). Polifenol yang terkandung dalam teh hijau memiliki aktivitas mirip prebiotik yang mampu memodulasi mikrobiota usus sehingga bisa digunakan sebagai terapi anti-obesitas (Zhang et al., 2018). Sebuah penelitian in vitro menyimpulkan bahwa polifenol yang diekstrak dari teh hijau, teh oolong dan teh hitam meningkatkan *Short Chain Fatty Acid* (SCFA) dengan kadar SCFA lebih tinggi terdapat pada sel yang diberikan polifenol yang berasal dari teh hijau (Sun et al., 2018). Polifenol yang

berasal dari *peach* dan *plum* berhasil meningkatkan jumlah *Lactobacillus sp.* dan SCFA pada feces hewan coba.(Noratto et al., 2014). Flavonoid yang berasal dari apel berhasil menurunkan sejumlah penanda inflamasi (Espley et al., 2014).

Madu dengan kandungan polifenol dan fruktooligosakaridanya menghambat pertumbuhan beberapa mikrobiota usus yang merugikan bagi kesehatan, dimana *Clostridium sp.* salah satunya. Penelitian sebelumnya menyimpulkan bahwa polifenol pada mangga berhasil menurunkan jumlah *Clostridium leptum* pada kelompok obese (Barnes et al., 2019), polifenol yang terkandung pada anggur merah berhasil menurunkan jumlah *Clostridium sp.* pada feces (Cuervo et al., 2015). Beberapa penelitian mengemukakan bahwa fruktooligosakarida menghambat pertumbuhan *Clostridium sp.* (Erejuwa et al., 2012), dimana fruktooligosakarida bisa ditemukan pada madu.

Berdasarkan latar belakang tersebut, dapat disimpulkan bahwa keseimbangan mikrobiota usus (*Lactobacillus sp.*, *Bifidobacterium sp.*, *Clostridium Leptum*, *E.Coli*) sangat berperan penting dalam mencegah obesitas, dan madu mengandung fruktooligosakarida dan polifenol yang tinggi untuk mendukung pertumbuhan kedua mikrobiota tersebut. *Clostridium leptum* erat kaitannya dengan obesitas, dan madu menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Hingga saat ini belum ada penelitian yang meneliti tentang efek penggunaan madu trigona terhadap

mikrobiota usus pada subjek dengan obesitas, sehingga peneliti tertarik untuk melakukannya.

A. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, maka pertanyaan penelitian dirumuskan dalam pertanyaan berikut :

1. Bagaimana pengaruh madu trigona terhadap indikator obesitas yang meliputi berat badan, indeks massa tubuh, lingkar perut, persentase lemak tubuh total dan persentase lemak visceral pada subjek dengan obesitas?
2. Bagaimana pengaruh madu trigona terhadap profil lipid subjek dengan obesitas?
3. Bagaimana pengaruh madu trigona terhadap jumlah *Lactobacillus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Clostridium leptum*, *Escherichia coli* dan total bakteri penderita obese?

B. Tujuan Penelitian

Tujuan umum : Mengetahui pengaruh pemberian madu trigona terhadap indeks antropometrik, jumlah mikrobiota usus, dan kadar profil lipid pada subjek dengan obesitas

Tujuan Khusus :

1. Menilai besar perbedaan perubahan indeks massa tubuh sebelum dan setelah intervensi pada kelompok obesitas yang diberikan madu trigona 70 gram selama 2 bulan dengan kelompok kontrol.
2. Menilai besar perbedaan perubahan lingkaran perut sebelum dan setelah intervensi pada kelompok obesitas yang diberikan madu trigona 70 gram selama 2 bulan dengan kelompok kontrol.
3. Menilai besar perbedaan perubahan persentase lemak tubuh total sebelum dan setelah intervensi pada kelompok obesitas yang diberikan madu trigona 70 gram selama 2 bulan dengan kelompok kontrol.
4. Menilai besar perbedaan perubahan persentase lemak visceral sebelum dan setelah intervensi pada kelompok obesitas yang diberikan madu trigona 70 gram selama 2 bulan dengan kelompok kontrol.
5. Menilai besar perbedaan perubahan kadar profil lipid (kolesterol total, trigliserida, HDL kolesterol dan LDL kolesterol) sebelum dan setelah intervensi pada kelompok obesitas yang diberikan madu trigona 70 gram selama 2 bulan dengan kelompok kontrol.

6. Menilai besar perbedaan perubahan jumlah mikrobiota usus (*Lactobacillus sp.*, *Bifidobacterium sp.*, *Clostridium leptum*, *Escherichia coli*) sebelum dan setelah intervensi pada kelompok obesitas yang diberikan madu trigona 70 gram selama 2 bulan dengan kelompok kontrol.
7. Menilai besar perbedaan perubahan ratio jumlah mikrobiota usus (*Lactobacillus sp.*, *Bifidobacterium sp.*, *Clostridium leptum*, *Escherichia coli*) dengan total bakteri sebelum dan setelah intervensi pada kelompok obesitas yang diberikan madu trigona 70 gram selama 2 bulan dengan kelompok kontrol.

C. Manfaat Penelitian

1. Aspek Pengembangan Ilmu

Hasil penelitian diharapkan memberikan gambaran pengaruh madu terhadap indikator obesitas. jumlah *Lactobacillus sp.*, *Bifidobacterium sp.*, *Clostridium leptum*, *E.coli* dan kadar profil lipid subjek dengan obesitas.

2. Aspek Aplikasi

Hasil penelitian diharapkan bisa menambah sumber makanan yang kaya akan polifenol untuk penanganan obesitas.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tentang Obesitas

Obesitas terjadi akibat ketidakseimbangan antara asupan energi dan penggunaan energi, bisa oleh faktor lingkungan, gaya hidup, ataupun genetik. Gaya hidup atau keadaan lingkungan yang memberi andil terhadap kejadian obesitas antara lain sering mengonsumsi makanan siap saji yang tinggi kalori, asupan kalori yang tinggi melebihi kebutuhan harian dan disertai dengan aktifitas fisik yang kurang, efek samping dari obat-obatan. Faktor genetik yang berperan dalam kejadian obesitas antara lain adanya mutasi yang terjadi pada leptin, yakni protein yang dikeluarkan oleh sel adiposit khusus untuk pengeluaran energi dan mengurangi nafsu makan. Selain leptin, faktor genetik lain adalah adanya reseptor leptin, reseptor 4 melanokortin, dan beberapa defek gen lainnya. (Sivamaruthi et al., 2019)

Obesitas berdampak negatif bagi kesehatan dan memiliki hubungan yang erat dengan penyakit kronis lainnya. Seseorang yang mengalami obesitas mengalami resiko 2,9 kali lebih tinggi untuk mengidap diabetes mellitus type 2 dibandingkan yang tidak obese. Sebanyak 64% kejadian komplikasi kardiovaskuler erat kaitannya dengan obesitas. Orang obese

yang mengalami hipertensi dan diabetes memiliki resiko 30% mengalami infark miokard (De Lorenzo et al., 2019)

Banyak teori yang mendasari terjadinya obesitas, salah satunya adalah mikrobiota usus. Mekanisme mikrobiota yang memengaruhi obesitas pada manusia sangat kompleks dan masih belum diketahui. Dugaan sementara dari mekanisme tersebut antara lain karena kadar SCFA yang tinggi memicu terjadinya adipogenesis, penggunaan energi tubuh yang berlebihan, ekspresi berlebihan dari gen yang berkaitan dengan obesitas, dan peningkatan produksi lipopolisakarida oleh mikrobiota usus yang menyebabkan obesitas dan inflamasi (J. Chen et al., 2014). Mikroba mengubah permeabilitas usus dan menyebabkan terjadinya endotoxemia, peningkatan penyediaan energi, sistem *endocannabinoid* (eCB), dan mengatur metabolisme lipid dengan meningkatkan aktivitas dari lipoprotein lipase dan lipogenesis. (Sivamaruthi et al., 2019)

Mikrobiota meningkatkan penyimpanan lemak melalui 2 cara, yaitu penekanan *angiopentin-like protein 4/ Fasting-induced adipose factor* (Angpt14/Fiaf) dan melalui homeostasis energi. Fiaf diproduksi oleh jaringan lemak putih dan coklat serta usus, dan menghambat lipoprotein lipase (LPL) yang menghasilkan regulasi oksidasi asam lemak di jaringan adiposa dan otot. Sehingga penghambatan LPL oleh Fiaf mengurangi penyimpanan lemak, dan sebaliknya penekanan Fiaf meningkatkan penyimpanan lemak. Mikrobiota berperan dalam homeostasis energi

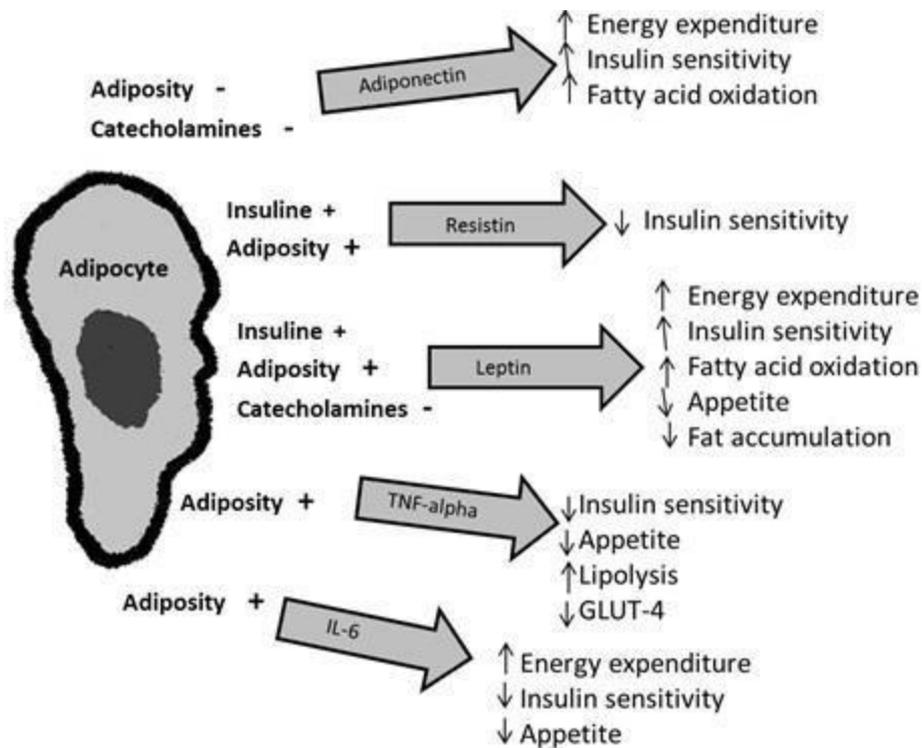
melalui SCFA yang dihasilkan dari hasil fermentasi karbohidrat yang tidak bisa dicerna (*non-digestible carbohydrates*). SCFA tersebut terutama butirat merupakan sumber energi utama bagi kolonosit, bahkan bertanggung jawab terhadap 70% dari kebutuhan energi kolonosit. (Aguirre & Venema, 2015).

Selain mengatur penyimpanan lemak, mikrobiota usus juga dapat berperan dalam *energy harvesting* manusia. Mikrobiota usus dapat meningkatkan kapasitas dari *energy harvesting* pada makanan. Penelitian menunjukkan bahwa faktor genetik yang berkaitan dengan mikrobiota usus dan gaya hidup termasuk asupan dan pengeluaran energi merupakan faktor yang berkontribusi dalam patofisiologi obesitas. Meskipun kontribusi mikrobiota usus pada kejadian obesitas secara langsung tidak besar, perubahan kecil pada keseimbangan energi dalam setahun dapat menghasilkan perubahan berat badan yang signifikan. Mikrobiota usus berkorelasi dengan derajat perubahan Indeks Massa Tubuh (IMT) individu yang berhubungan dengan *energy harvesting* dari makanan yang dikonsumsi.

Studi menunjukkan bahwa mikrobiota usus dapat mempengaruhi perkembangan regulasi pusat nafsu makan dan rasa kenyang. SCFA akan berikatan dengan *G Protein Couple Receptor* (GPCRs) yang mempengaruhi *intake* makanan dan lipogenesis (Acces, 2018). Mikrobiota usus dapat memodulasi penyimpanan energi dan homeostasis energi lewat produksi molekul spesifik. Keadaan metabolik host, makanan, obat-

obatan yang digunakan memiliki efek yang signifikan pada jumlah dan keberagaman jenis mikrobiota usus.

Teori lain yang mendasari terjadinya obesitas adalah adanya hipertrofi dan hiperplasia dari jaringan adiposa. Selain sebagai tempat penyimpanan cadangan makanan, jaringan adiposa juga merupakan kelenjar endokrin. Sel adiposit mengeluarkan hormon dan adipokin. Pada individu yang ramping dan sehat, adiposit lebih kecil, lebih sensitif terhadap insulin, dan menghasilkan mediator anti inflamasi seperti adiponektin, IL-10, IL-4, IL-13, IL-1 *receptor agonist* (IL-1Ra), apelin dan *Transforming Growth Factor beta* (TGF β). Sedangkan adiposit pada individu obesitas akan mengalami hipertrofi dan terjadi infiltrasi makrofag M1 pro inflamasi yang mengeluarkan sitokin pro inflamasi seperti TNF α , IL-6, MCP-1, Angiotensin II, dan *plasminogen activator inhibitor-1*, sehingga kondisi obesitas sering juga disebut sebagai kondisi peradangan. (Muhammad Abdul Kadar et al., 2021). Berikut adalah adipokin beserta perannya :



Gambar 2.1 Berbagai jenis adipokin beserta perannya (Rahmawati, 2014)

Tabel 2.1 Jenis Adipokin dan Mekanisme Kerja

No	Jenis Adipokin	Mekanisme kerja
1	Leptin	<ul style="list-style-type: none"> • Menghambat lipogenesis • Merangsang lipolisis • Meningkatkan sensitivitas insulin • Meenghambat nafsu makan • Merangsang saraf simpatik sehingga mmeningkatkan pengeluaran energi
2	<i>Tumour Necrosis Factor</i> (TNF α)	<ul style="list-style-type: none"> • Meningkatkan pelepasan asam lemak bebas di adiposit • Blok sintesis adiponektin • Mengaktifkan NF-kB sehingga menimbulkan inflamasi di jaringan adiposa
3	Interleukin 6 (IL-6)	<ul style="list-style-type: none"> • Berkorelasi dengan IMT, resistensi insulin, dan intoleransi glukosa • Antagonis sekresi adiponektin • Meningkatkan glukoneogenesis • Menghambat glikogenesis

4	<i>Plasminogen Activator Inhibitor 1 (PAI-1)</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Berkaitan dengan resistensi insulin • Kadarnya diatur oleh penumpukan lemak visceral
5	Adiponektin	<ul style="list-style-type: none"> • Kadarnya menurun jika terjadi resistensi insulin • Meningkatkan sensitivitas insulin • Mengurangi aliran asam lemak bebas • Meningkatkan oksidasi • Memiliki anti inflamasi tinggi karena menghambat adhesi monosit dan transformasi makrofag. • Menghambat ekspresi TNFα • Mengurangi tingkat CRP • Meningkatkan produksi NO pada sel endotel • Ekspresi adiponektin dihambat oleh TNFα dan IL-6

Obesitas bisa dicegah dengan menerapkan Prinsip Gizi Seimbang yang pada dasarnya merupakan rangkaian upaya untuk menyeimbangkan energi yang masuk dan keluar. Prinsip Gizi Seimbang ini memiliki 4 (empat) pilar yaitu :

1. Mengonsumsi aneka ragam pangan/ makanan

Aneka ragam makanan yang dimaksud adalah mengonsumsi 5 kelompok pangan setiap hari atau setiap makan, terdiri dari makanan pokok, lauk pauk, sayuran dan buah-buahan dan air yang disertai keanekaragaman dalam setiap kelompok pangan.

2. Membiasakan perilaku hidup bersih

3. Melakukan aktivitas fisik

Aktivitas fisik yang dianjurkan adalah minimal 30 menit sehari atau 150 menit dalam seminggu.

Aktivitas fisik bukan hanya untuk pembakaran energi saja, melainkan juga bisa menurunkan resiko penyakit kardiovaskuler, Diabetes Melitus, depresi, kecemasan dan beberapa penyakit lainnya (Garber, 2019)

4. Memantau berat badan secara teratur untuk mempertahankan berat badan normal (Kementerian Kesehatan RI, 2014)

Penanganan obesitas yang telah menjadi masalah nasional dilakukan melalui beberapa program, antara lain Gerakan Nusantara Tekan Angka Obesitas (GENTAS). Beberapa poin penting dalam gerakan ini antara lain :

1. Atur Pola Makan

- a. Menggunakan piring makan dengan model T, yaitu jumlah sayuran adalah 2x lipat dari bahan makanan sumber karbohidrat (5-6 porsi sehari).
- b. Jumlah protein setara dengan jumlah karbohidrat
- c. Buah minimal harus sama dengan jumlah karbohidrat atau protein (minimal 3 porsi sehari).
- d. Pilihlah makanan yang disenangi namun tetap memperhatikan jumlah, jenis dan jadwal makan.

Berikut adalah piring makan model T yang menggambarkan porsi perbandingan karbohidrat (makanan pokok) yang sama banyak dengan sumber protein (lauk pauk) yakni seperempat bagian, sedangkan porsi sayuran adalah setengah bagian.



Gambar 2.2 Piring Makan Model T

2. Aktif bergerak
 - a. Dianjurkan untuk aktif bergerak baik melalui aktifitas fisik maupun latihan fisik.
 - b. Rekomendasi aktifitas fisik yang dianjurkan adalah melakukan aktifitas fisik sedang selama 150 menit dalam seminggu atau aktifitas fisik berat 75 menit dalam seminggu atau kombinasi keduanya.
 - c. Latihan fisik yang dianjurkan adalah latihan aerobik seperti jalan cepat, bersepeda, berenang.
 - d. Bagi yang memiliki waktu yang sangat terbatas, bisa dilakukan masing-masing 10 menit sehingga terakumulasi 30-60 menit dalam sehari.
3. Menikmati hari

Menikmati hari dengan melakukan hal-hal yang menyenangkan seperti liburan bersama keluarga, melakukan hobi yang disenangi, tidur yang cukup, beribadah, bermain bersama seperti tarik tambang, lompat tali, gobak sodor, dan permainan

tradisional lainnya.(Direktorat Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Menular, 2017)

B. Tinjauan Umum Tentang Mikrobiota Usus pada Obesitas

Mikrobiota usus adalah mikroorganisme yang hidup berkoloni pada traktus gastrointestinal manusia, meliputi bakteri, jamur, *archae*, protozoa dan virus. Diperkirakan sekitar 100 trilyun hidup pada usus manusia dan terjadi hubungan sinbiotik dengan *host*.

Tubuh manusia merupakan tempat berlangsungnya simbiosis dengan berbagai mikroorganisme, yang sering disebut dengan mikroflora, flora normal atau mikrobiota. Terdapat sekitar 10^{14} mikrobiota pada tubuh manusia, yaitu sepuluh kali lebih banyak daripada jumlah sel tubuh manusia, sebagian besar berada pada usus. Mikrobiota usus memberi dampak positif bagi kesehatan, dengan memproduksi asam lemak rantai pendek dan menghasilkan energi, membantu proses absorpsi ion-ion pada saluran cerna, dan produksi vitamin K. Mikrobiota usus juga berperan terlibat dalam pengaturan proliferasi dan diferensiasi sel epitel usus, menstimulasi sistem pertahanan tubuh, serta melindungi tubuh dari bakteri-bakteri patogen. Sekitar 70% mikrobiota usus berada di kolon dengan kerapatan 10^{11} sel/ml². Kolonisasi yang besar tersebut disebabkan oleh luasnya permukaan kolon yang kaya akan molekul-molekul sehingga dapat digunakan sebagai nutrisi untuk pertumbuhan berbagai mikrobiota. (Sivamaruthi et al., 2019).

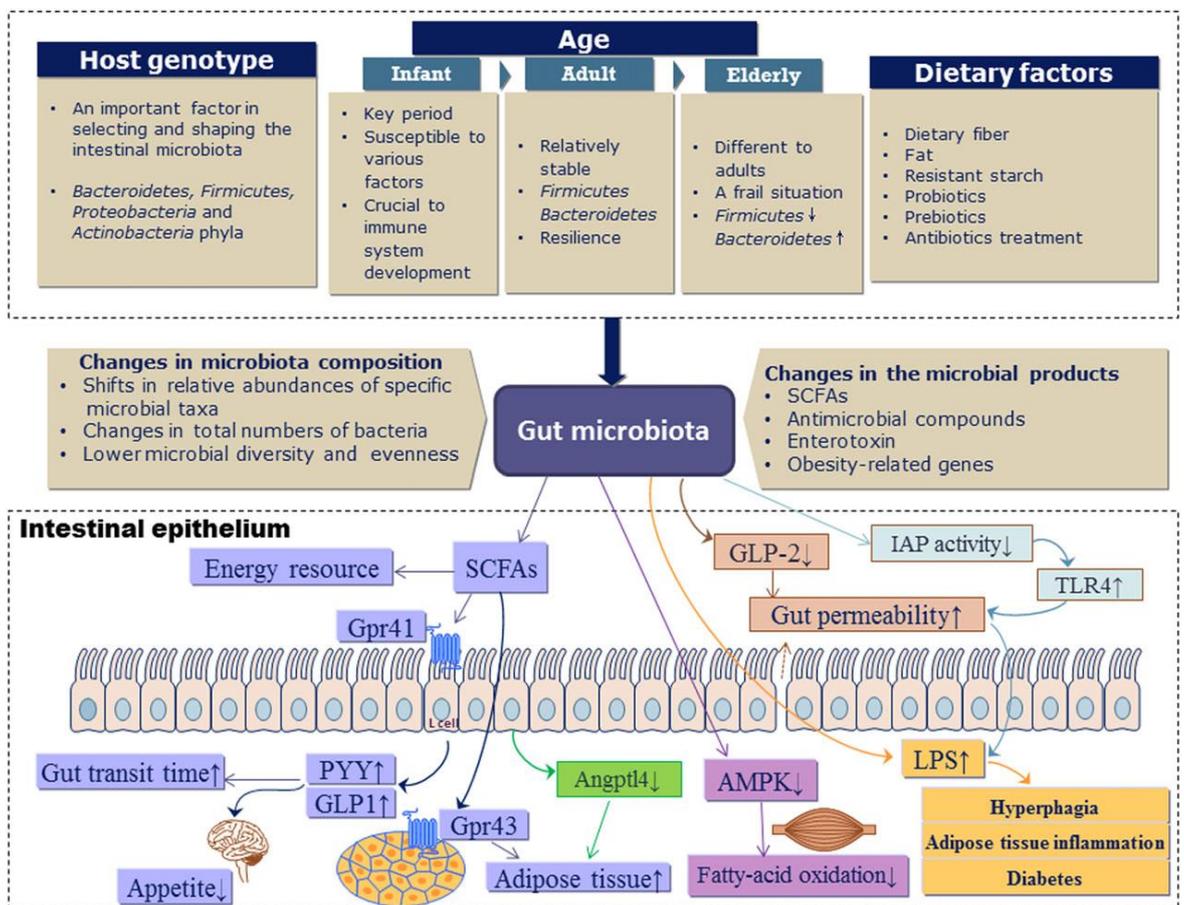
Komposisi mikrobiota usus pada manusia sangat bervariasi satu sama lain dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti genotype dari individu, usia, jenis diet dan konsumsi antibiotik. Filum mikrobiota usus yang dominan adalah *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, dan *Verrucomicrobia*. 90% mikrobiota usus mewakili filum *Firmicutes* dan *Bacteroidetes*. Filum *Firmicutes* terdiri dari lebih dari 200 genera yang berbeda seperti: seperti *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, dan *Ruminococcus*. Genus *Clostridium* mewakili 95% dari filum *Firmicutes*. *Bacteroidetes* terdiri dari genera dominan seperti *Bacteroides* dan *Prevotella*. Filum *Actinobacteria* terutama diwakili oleh genus *Bifidobacterium* (Rinninella et al., 2019)

Ketika seorang bayi baru saja lahir, saluran pencernaannya berada dalam keadaan steril. Kontak pertama dengan mikrobiota bisa berasal dari vagina, feces ataupun di rumah sakit. Koloni yang sering terdapat pada awal kelahiran adalah *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, dan *Bacteroides*. Mikrobiota bayi baru lahir bergantung pada proses persalinannya. Kontak pertama bayi yang lahir per vaginam berasal dari vagina dan jalan lahir, misalnya *Lactobacillus*, *Prevotella*, dan *Atopobium*, sedangkan kontak pertama bayi yang lahir melalui operasi *sectio saecaria* berasal dari kulit orang tua dan pengasuhnya, serta dan mikrobiota yang berasal dari rumah sakit, seperti *Staphylococcus* dan *Propionibacterium spp* (Catalkaya et al., 2020). Selama 2 tahun awal kehidupan, usus bayi mulai berubah dan rentan

dengan banyak faktor, bergantung pada proses persalinan, faktor lingkungan lainnya seperti kesehatan, nutrisi dan antibiotik yang dikonsumsi. Pemberian ASI ataupun susu formula juga ikut memengaruhi komposisi dan jenis mikrobiota usus seorang bayi. *Bifidobacterium sp.* mendominasi usus bayi yang diberikan ASI sehingga melindungi usus dari serangan koloni patogen (Catalkaya et al., 2020). Setelah usia 2 tahun hingga dewasa, komposisi mikrobiota usus tampak lebih stabil dan didominasi oleh *Bacteroidetes* dan *Firmicutes*. Meskipun individu mengalami gangguan dari lingkungan, flora normal tersebut mampu untuk melindungi. Namun jika gangguan sudah berlebihan dan melampaui kapasitas normal, maka akan terjadi disbiosis yang akan menyebabkan berbagai macam penyakit. (J. Chen et al., 2014).

Mikrobiota usus akan menghasilkan asam lemak rantai pendek (*short chain fatty acid = SCFA*), seperti asetat, propionat dan butirat. Asetat dan propionat dihasilkan oleh *bacteroidetes*, sedangkan butirat berasal dari *Firmicutes*. Butirat dan propionat merupakan komponen antiobesigenik meningkatkan sekresi leptin dan menurunkan sintesis kolesterol, sedangkan asetat adalah komponen obesogenik yang meningkatkan jumlah jaringan adiposa, sintesis kolesterol di hati dan lipogenesis. (Helmyati et al., 2019) Butirat merupakan sumber energi utama untuk kolonisasi, mendorong proliferasi dan pematangan kolonisasi untuk kesehatan kolon. Asetat dan propionat melintasi epitel menuju hepar, propionat dimetabolisme sedangkan asetat tetap berada di sirkulasi

perifer (Sivamaruthi et al., 2019). SCFA berperan dalam menjaga integritas barrier epitel dengan mengatur protein *tight junction* (claudin-1, occludin, dan Zonula occludens-1), dimana ketika protein tersebut menurun maka akan menyebabkan translokasi bakteri dan reaksi inflamasi akibat peningkatan LPS.(Sivamaruthi et al., 2019)



Gambar 2.3 Faktor yang Memengaruhi Mikrobiota Usus beserta Mekanisme Kerja
 Sumber : (J. Chen et al., 2014)

1. Jalur Metabolik

Interaksi tubuh dan mikrobiota usus menyebabkan obesitas melalui bisa melalui jalur metabolik. *Adenosine Monophosphate Activated Protein Kinase* (AMPK) merupakan enzim kunci yang mengontrol energi sel, dimana aktivasi AMPK ini akan merangsang aktivitas beberapa faktor transkripsi yang penting dalam regulasi glukosa, kolesterol dan metabolisme lipid, meningkatkan oksidasi asam lemak. Sejalan dengan itu, ekspresi AMPK yang diatur ke bawah oleh mikrobiota usus, meningkatkan berat jaringan adiposa dengan menghambat oksidasi asam lemak yang menyebabkan obesitas. (Aguirre & Venema, 2015)

SCFA yang dihasilkan oleh mikrobiota usus akan berikatan dengan *G-protein Coupled Receptors* (GPCR), yakni GPCR 41 dan GPCR 43 atau biasa dikenal dengan *Free Fatty Acid Receptors* (FFAR)-3 dan FFAR-2. Afinitas setiap SCFA tersebut berbeda, dimana afinitas asetat dan propionat terhadap GPCR43 lebih besar dibandingkan dengan butirrat, dan afinitas butirrat dan propionat terhadap GPCR 41 lebih besar dibandingkan dengan asetat. Aktivasi GPCR 41 dan GPCR43 akan meningkatkan hormon usus seperti *Glucagon Like Peptide-1* (GLP-1) dan peptida YY (PYY). GLP-1 akan merangsang sekresi insulin akan memperlambat pengosongan lambung dan meningkatkan rasa kenyang. Sekresi PYY memperlambat transit usus, menekan motilitas usus dan meningkatkan kerja insulin dalam metabolisme glukosa di jaringan lemak dan otot. GPCR41 juga akan merangsang ekspresi leptin, yakni hormon yang

berperan dalam peningkatan metabolisme energi dan menghambat rasa lapar.(Aguirre & Venema, 2015)

2. Jalur Inflamasi

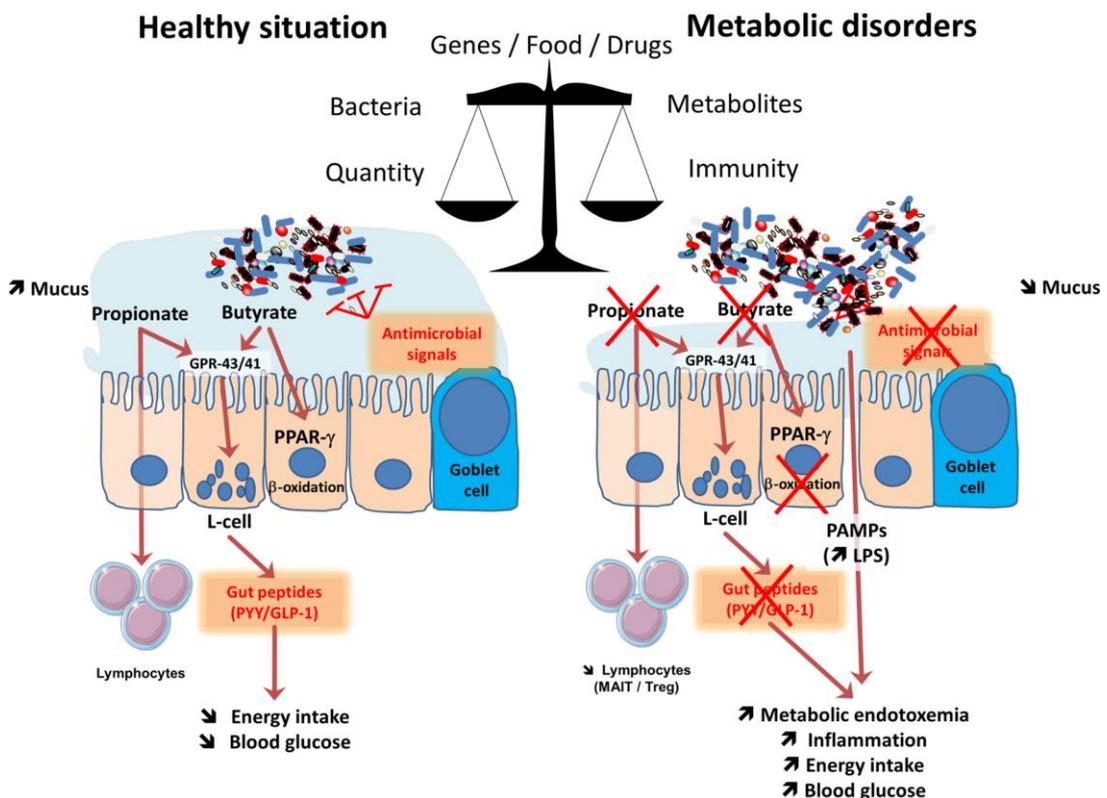
Saluran pencernaan manusia bukan hanya mengandung sejumlah mikroba tetapi juga merupakan tempat berlabuhnya sejumlah sel imun, sehingga pada gastrointestinal senantiasa terjadi interaksi antigen dan metabolit mikroba secara terus menerus (Cani, 2018) . Usus manusia dilindungi dari mikroba dan benda asing lainnya oleh sistem imun. Epitel yang menutupi seluruh saluran cerna merupakan barrier fisik yang sangat penting dalam imunitas *innate* yang bekerja sebelum patogen masuk ke tubuh. Jika mereka berhasil ditembus, maka sel-sel imunitas *innate* yang berada di epitel dan subepitel akan segera bekerja, makrofag jaringan, sel *mast*, sel dendritik, leukosit PMN, sel NK dan komplemen. Jika patogen berhasil masuk ke darah, maka makrofag dalam darah (monosit) dan plasma protein (komplemen) akan melawannya. (Wahid & Miskad, 2016)

Mikroba yang masuk ke tubuh akan dikenali oleh reseptor sistem imun yaitu *Pattern Recognition Receptors* (PRR) seperti *Toll-Like Receptors* (TLRs) dan *NOD-like Receptors* (NLR). TLRs adalah reseptor transmembran yang terdapat di permukaan sel seperti TLR-2,4 dan 5 atau pada lisosom kompartemen seperti TLR-3,7,8,9 atau 13, sedangkan reseptor NOD merupakan protein sitosol. Kedua reseptor ini akan mengenal *Pathogen-Associated Molecular Patterns* (PAMP's) dari mikroba seperti lipopolisakarida (LPS), peptidoglikan, *lipoteichoic acid*, *flagellin* dan

muramyldipeptida atau *Danger-associated Molecular Patterns* (DAMPs) dari sel yang rusak. (Cani, 2018)

Lipopolisakaida (LPS) merupakan penanda pada bakteri gram negatif yang memicu terjadinya reaksi inflamasi tingkat rendah dan resistensi insulin melalui interaksi antara mikrobiota usus dan imunitas *innate*. Peningkatan LPS dalam sirkulasi dikenal dengan nama endotoksemia metabolik berperan dalam mekanisme terjadinya obesitas, resistensi insulin, intoleransi glukosa, dislipidemia. (Cani, 2018)

3. Jalur Hormonal



Gambar 2.4 Mekanisme Interaksi Mikrobiota Usus dan host (Cani, 2018)

Dalam keadaan normal, komposisi mikrobiota usus memengaruhi ketebalan lapisan mukus, produksi sinyal antimikroba dan asam lemak rantai pendek (*short chain fatty acid* = SCFA) seperti propionat dan butirat. Kedua jenis SCFA ini akan berikatan dengan reseptor berpasangan G-protein (*G Protein Coupled Receptors* =GPR)-43 dan GPR-41 yang diekspresikan pada sel L-enteroendokrin yang kemudian akan merangsang sekresi peptida usus seperti *glucagon like peptide* (GLP-1) dan peptide-YY (PYY), sehingga menurunkan asupan makanan, pengosongan lambung dan meningkatkan metabolisme glukosa. GPR-41 juga meningkatkan sekresi leptin yang akan menurunkan massa lemak. Propionat juga akan berikatan dengan GPR-43 yang diekspresikan pada limfosit sebagai mekanisme pertahanan tubuh. GPR-43 mencetuskan lipolisis, menurunkan sintesis lemak dan meningkatkan metabolisme glukosa. Butirat akan mengaktivasi *Peroxisome Proliferator Activated Receptor γ* (PPAR- γ) untuk memulai proses beta oksidasi dan konsumsi oksigen guna mempertahankan kondisi anaerob di lumen usus, dimana kondisi anaerob merupakan kondisi yang diperlukan untuk mencegah perluasan patogen anaerob fakultatif seperti *Salmonella* dan *Eschericia*.(Cani, 2018) (Helmyati et al., 2019).

Perubahan yang terjadi pada komposisi mikrobiota usus akan menyebabkan menipisnya lapisan mukus, menurunnya sistem pertahanan terhadap mikroba, dan menurunnya produksi butirat dan propionat. Akibatnya, peptida usus yang dihasilkan oleh sel-L akan mengalami

penurunan, aktivasi PPAR- γ menurun yang menyebabkan meningkatnya oksigen dan proliferasi *enterobacteriaceae*. Berkurangnya produksi propionat menyebabkan menurunnya jumlah sel T-spesifik (*mucosal-associated invariant T cells* = MAIT) pada lamina propria usus. (Cani, 2018)

Teori lain tentang mekanisme terjadinya obesitas dari mikrobiota usus, bisa melalui 3 jalur :

1. Axis mikrobiota-jaringan lemak, bahwa metabolit dari mikrobiota usus meningkatkan adipogenesis dengan memicu inflamasi akibat LPS dan diferensiasi adiposit yang dipicu oleh SCFA.
2. Axis Usus-Liver, disbiosis mikrobiota mengubah permeabilitas usus meningkatkan pelepasan molekul bioaktif yang berasal dari bakteri di hati. LPS berinteraksi dengan TLR4 dari sel Kupffer meningkatkan perekrutan protein MyD88, IRAK, TRAF6, dan NIK yang mendorong aktivasi jalur pensinyalan MAPK, JNK, p38, dan NF- κ B yang menyebabkan peradangan dan resistensi insulin yang pada akhirnya menyebabkan perlemakan hati nonalkohol (*Non alcohol Fatty Liver* = NAFLD). Metabolit seperti asam empedu, SCF, dan kolin memainkan peran penting dalam menyebabkan NAFLD.
3. Axis usus-otak, neuroaktif peptida, laktat, SCF, dan LPS mikrobiota usus mengaktifkan neuron aferen vagal dan hormon usus yang

menyebabkan perubahan nafsu makan dan neuroinflamasi.
(Sivamaruthi et al., 2019)

C. Tinjauan Umum tentang *Lactobacillus sp.*

Lactobacillus Reuterii merupakan bakteri asam laktat dan termasuk ke dalam filum *Firmicutes*, kelas *Bacilli*, ordo *Lactobacillales*, famili *Lactobacillaceae*. Berdasarkan fermentasi glukosa, genus bakteri ini terbagi menjadi 3 kelompok yaitu :

1. Obligat homofermentatif, yaitu mendegradasi heksosa terutama menjadi asam laktat dan tidak dapat memfermentasi glukonat dan pentosa.
2. Fakultatif heterofermentatif, yaitu memfermentasi heksosa hanya menjadi asam laktat dengan *Embden-Meyerhof-Parnas Pathway* atau melalui *pentose phosphoketolase* yang terinduksi menjadi asam laktat, asam asetat, etanol dan asam format dan pentosa terfermentasi menjadi asam laktat dan asam asetat.
3. Obligat heterofermentatif, yaitu memfermentasi heksosa menjadi asam laktat, asam asetat, etanol dan karbondioksida, pentosa terfermentasi menjadi asam laktat dan asam asetat.

Lactobacillus spp. merupakan kelompok yang bakteri asam laktat yang paling dominan dan merupakan species yang sering digunakan sebagai modulasi mikrobiota usus untuk kesehatan manusia, termasuk penanganan obesitas. *Lactobacillus spp.* dapat meningkatkan fungsi

barier dari saluran gastrointestinal terhadap perkembangbiakan bakteri patogen. Selain itu, *Lactobacillus spp.* juga berperan dalam sistem imun dengan melawan penyakit-penyakit inflamasi melalui pengaruhnya terhadap pada sel T regulator dan sel T helper (Azad et al., 2018).

Dalam kaitannya dengan asam lemak rantai pendek, *Lactobacillus sp.* melalui proses fermentasi piruvat akan menghasilkan asetat, propionat dan butirrat. Asetat berkontribusi dalam pengasaman lingkungan. Asetat akan memasuki sirkulasi perifer dan dimetabolisme oleh otot dan jaringan lunak lainnya. Propionat akan diambil oleh hati dan bersama dengan asetat akan berperan dalam metabolisme gula dengan menurunkan glikemis dan meningkatkan sensitivitas insulin. Butirat merupakan sumber energi tambahan bagi kolonosit, mudah didapat dan tidak langsung dimasukkan melalui makanan melainkan diperoleh sebagai hasil metabolisme bakteri komensal yang memfermentasi polisakarida yang tidak dapat dicerna. (Pessione, 2012)

Penggunaan *Lactobacillus spp.* sebagai anti obesitas melalui beberapa mekanisme. 5 strain *Lactobacillus spp.* yaitu *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* dan *Lactobacillus paracasei* mampu mengurangi akumulasi lemak, metabolisme lipid, pengaturan kandungan leptin dan adinopektin (Wang et al., 2020). *Lactobacillus plantarum* secara signifikan menurunkan aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase (ALT), kolesterol total dan trigliserida, serta mengatur komposisi mikrobiota usus

dengan meningkatkan jumlah bakteri esensial seperti *Bacteroidetes*, *Akkermansia*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* dan meningkatkan rasio *Bacteroidetes* : *Firmicutes*.(Hussain et al., 2020). Sebuah penelitian suplementasi ekstrak bawang putih yang difermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* mampu menekan adipogenesis dengan menurunkan regulasi mRNA dan ekspresi protein PPAR γ , C / EBP α , dan protein lipogenik, termasuk SREBP-1c, FAS, dan SCD-1 (Lee et al., 2016). *L.reuterii* berperan sebagai antiobesitas dalam tubuh. *L. reuterii* memperbaiki fenomena obesitas, kadar proinflamasi serum dan enzim antioksidan. Bakteri ini meningkatkan konsumsi oksigen dalam jaringan adiposa putih (*White Adipose Tissue* = WAT). *L. reuterii* meningkatkan kadar transporter glukosa tipe 4 dan *carbohydrat responsive element binding protein* dan menurunkan ekspresi asetil KoA Karboksilase-1 sehingga mengubah ekspresi gen yang terlibat dalam metabolisme glukosa dan lipid di WAT. *L.reuterii* dapat mengobati obesitas melalui pembentukan kembali metabolisme energi WAT pada tikus obesitas. (Chen et al., 2018)

D. Tinjauan Umum tentang *Bifidobacterium sp.*

Bifidobacterium sp. sp. merupakan mikroorganisme komensal yang terdapat pada pencernaan manusia dan bermanfaat bagi kesehatan. *Bifidobacterium sp.* sering digunakan sebagai anti obesitas. *B.breve* menurunkan massa lemak tubuh pada orang dewasa pre-obesitas (Minami et al., 2018) *B. longum* yang diinaktivasi menurunkan berat badan

dan massa lemak pada mencit (Ben Othman & Sakamoto, 2020). Beberapa strain *Bifidobacterium sp.* seperti *B. animalis* menghasilkan eksopolisakarida (EPS) yakni sebuah polimer karbohidrat ekso-seluler yang menguntungkan bagi kesehatan karena dapat memodulasi komposisi mikrobiota dengan meningkatkan *bacteroidetes-Prevotella* dan meningkatkan metabolisme lipid dan homeostasis glukosa. (Salazar et al., 2019). Pemberian *L. rhamnosus* dan *B. bifidum* mampu menurunkan kadar MDA serum dan meningkatkan kadar IL-10 serum pada tikus yang diinduksi HFD. (Prajawanti, 2020).

Dalam kaitannya dengan asam lemak rantai pendek (SCFA), *Bifidobacterium sp.* menghasilkan asetat yang berperan dalam metabolisme glukosa dengan menurunkan glikemia dan meningkatkan sensitivitas insulin. (LeBlanc et al., 2017)

E. Tinjauan Umum tentang *Clostridium leptum*

Clostridium merupakan salah satu genus dari phylum *Firmicutes*, bahkan genus ini mewakili 95% dari phylum *Firmicutes* (Rinninella et al., 2019). *Clostridium* adalah bakteri dalam usus manusia dengan cluster terbanyak. *Clostridium leptum* berasal dari cluster IV bersama dengan *C. sporosphaeroides*, *C. cellulosi* dan *Faecalibacterium prausnitzii*. (Guo P et al., 2020). Genus *Clostridia*. merupakan salah satu genus dari bakteri gram positif, bersifat merugikan dan bisa ditemukan pada intestinal

manusia. (Mohan et al., 2017). *Clostridium leptum* berjumlah 16-25% dari jumlah seluruh mikrobiota di feces (Kabeerdoss et al., 2013)

Clostridium dari cluster IV ini bersinergi dengan mikrobiota usus lainnya untuk memfermentasi karbohidrat makanan yang tidak diserap, menghasilkan asam lemak rantai pendek yang butiratnya merupakan sumber energi utama untuk epitel kolon dan sangat mempengaruhi fungsi epitel usus.(Kabeerdoss et al., 2013)

Mikrobiota ini bagian dari phylum *Firmicutes* dimana beberapa penelitian membuktikan bahwa pada obesitas rasio *Firmicutes* dan *Bacteroidetes* mengalami peningkatan. Beberapa species dari *Clostridium sp.* erat kaitannya dengan obesitas. Sebuah penelitian retrospektif menyimpulkan bahwa infeksi *Clostridium difficile* lebih tinggi pada orang obese dibandingkan pada non obese (Bishara et al., 2013). Jumlah *Clostridium coccooides* pada orang obese dengan sindrom metabolik lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol, dan berkorelasi positif dengan kadar triasilgliserol subjek obese. (Jamar et al., 2018)

Sifat merugikan dari *Clostridium sp.* bisa dicegah dengan mengurangi jumlah pertumbuhannya. Madu salah satu zat yang bisa menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Madu mengandung fruktooligosakarida yang pada beberapa penelitian terbukti bisa menghambat pertumbuhan *Clostridium sp.* (Erejuwa et al., 2012). Sebuah penelitian in vitro yang melakukan kultur terhadap beberapa termasuk

Clostridium perfringens, didapatkan hasil bahwa madu menghambat pertumbuhan *Clostridium perfringens*(Shin & Ustunol, 2005)

F. Tinjauan Umum tentang Escherichia coli

Keadaan obesitas yang disertai dengan diet makanan tinggi lemak menyebabkan perubahan pada integritas barrier epitel yang menjaga permeabilitas usus sehingga terjadi perubahan permeabilitas usus. Keadaan ini menyebabkan lipopolisakarida (LPS) yaitu penyusun dinding sel bakteri yang seharusnya berada dalam saluran cerna, masuk ke dalam sirkulasi dan mencetuskan terjadinya inflamasi tingkat rendah dan pada akhirnya menyebabkan terjadinya endotoksemia metabolik. *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri gram negatif yang menghasilkan LPS, bahkan menurut penelitian LPS yang berasal dari e.coli merusak fungsi barrier usus, sedangkan LPS dengan dosis yang sama dari bakteri lain tidak memberikan hasil yang sama (Anhê et al., 2021).

Lipopolisakarida yang dihasilkan oleh *E.coli* berkaitan erat dengan endotoksemia metabolik, namun apakah jenis endotoksemia yang menguntungkan atau merugikan, semua itu bergantung dari karakteristik LPS yang dihasilkan (Anhê et al., 2021). LPS yang berasal dari *E.coli* memiliki efek insulinogenik yang kuat dibandingkan dari bakteri lain. LPS dari *E.coli* juga merangsang sekresi GLP-1, meningkatkan sirkulasi insulin dan menurunkan glukosa darah (Anhê et al., 2021).

G. Tinjauan Umum tentang Pengaruh Madu terhadap Mikrobiota Usus

Madu merupakan makanan/minuman alami yang berasal dari perut lebah, mengandung berbagai komponen zat nutrisi yang menguntungkan bagi kesehatan, antara lain fruktosa dan glukosa(80-85%), air (15-17%); abu (0,2%); protein dan asam amino (0,1 - 0,4%) dan sejumlah kecil enzim, vitamin, dan zat lain, seperti senyawa fenolik. Namun komposisi madu bervariasi tergantung pada jenis tanaman tempat lebah mengkonsumsi nektar. Meski demikian, hampir semuanya madu di seluruh dunia mengandung jenis asam fenolik yang serupa, termasuk asam caffeic, ellagic, ferulic dan pcoumaric; flavonoid, seperti apigenin, chrysin, galangin, hesperetin, kaempferol, pinocembrin dan quercetin; dan anti oksidan, seperti tokoferol, asam askorbat, superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutathione tereduksi (GSH). (Ismail, 2017)

Madu trigona berasal dari lebah tanpa sengat yaitu *Trigona sp* atau kelompok melliponini. Indonesia memiliki sekitar 40 species jenis ini dan sudah banyak di antaranya yang dipelihara seperti : *Heterotrigona itama*, *Geniotrigona thoracica*, *Lepidotrigona terminata*, *Tetragonula biroi*, dan *T. Laeviceps*. Sifat madu trigona agak berbeda dengan madu pada umumnya, yaitu lebih encer karena memiliki kadar air lebih tinggi hingga 30%, rasa agak asam karena tercampur pollen, terfermentasi, kandungan asam bebas, mineral yang bersifat asam, dan asam amino madu. Madu yang dihasilkan bersifat multifloral disebabkan ukuran lebah yang lebih

kecil sehingga jenis nektar yang diambil lebih variatif, dan mengandung lebih banyak antioksidan dan antimikroba (Mata et al., 2020)

Madu berpengaruh terhadap mikrobiota usus melalui beberapa mekanisme, di antara nya madu sebagai prebiotik dan polifenol yang mendukung pertumbuhan mikrobiota usus, bahkan beberapa penelitian menemukan adanya mikrobiota pada madu.

1. Madu sebagai Probiotik

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang dapat memberikan efek menguntungkan bagi inangnya. Mikroorganisme ini terdapat pada makanan ataupun minuman, baik ditambahkan dengan sengaja ataupun terdapat secara alami. Mikroorganisme yang sering berperan sebagai probiotik meliputi mikroorganisme dari genus *Lactobacillus* ataupun *Bifidobacterium sp.*

Beberapa penelitian menemukan peran madu sebagai probiotik dengan adanya mikroorganisme menguntungkan yang terkandung di dalamnya. Penelitian oleh Lashani menemukan adanya *Lactobacillus* yang berhasil diisolasi dari madu (Lashani et al., 2020), dan beberapa bakteri asam laktat termasuk *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus pentosus* terdapat dalam madu apis mellifera (Feizabadi et al., 2020). Beberapa strain bakteri *Bacillus* ditemukan terdapat pada madu *stingless bee* di Malaysia (Zulkhairi Amin et al., 2020). Keerthi menemukan adanya

Lactobacillus Plantarum pada usus lebah madu jenis *apis cerana indica* (Honey Chandran & Keerthi T R, 2018)

2. Madu sebagai Prebiotik

Gula merupakan komponen utama dari madu yang didominasi oleh monosakarida yakni glukosa dan fruktosa. Komponen gula minor yang terkandung pada madu berasal dari disakarida yakni maltosa dan sukrosa, dan oligosakarida. Rasa dari oligosakarida kurang manis dan tak dapat dicerna oleh tubuh, sehingga berperan sebagai prebiotik. Oligosakarida pada madu tidak dicerna oleh enzim pencernaan tetapi difermentasikan oleh bakteri di kolon menghasilkan asam lemak rantai pendek (*Short chain Fatty Acid = SCFA*) yang menstimulasi pertumbuhan bakteri baik. (Mohan et al., 2017)

	Nectar honey	Honeydew honey
Monosaccharides		
Fructose	38.2	31.8
Glucose	31.3	26.1
Disaccharides		
Sucrose	0.7–1.31	0.5–0.8
Maltose and others	5–7.31	4–8.8
Trisaccharides		
Melezitose	<0.1	4.0
Erllose and others	1–1.5	4–4.7
Undetermined		
Oligosaccharides	3.1	10.1
Total sugars	79.7	80.5

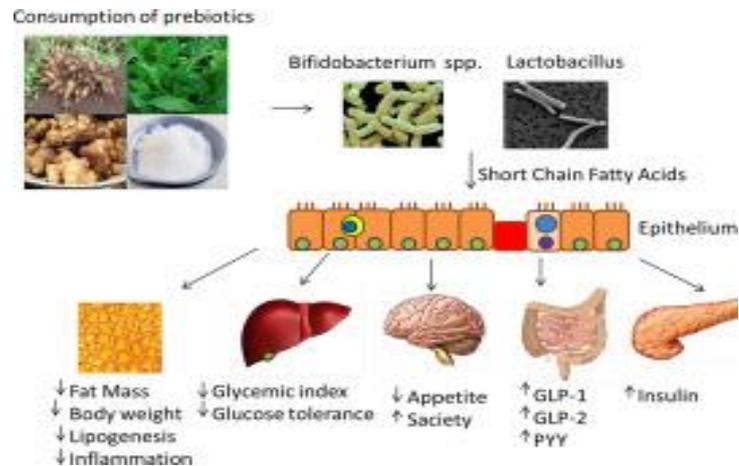
Prebiotik merupakan bahan pangan atau senyawa yang terkandung dalam makanan, tidak dapat dicerna oleh tubuh tepatnya oleh enzim amilase pankreas ataupun oleh enzim *brush borders* seperti dextrinase dan glukoamilase. Prebiotik menguntungkan bagi tubuh untuk mendukung

pertumbuhan mikrobiota usus, terutama usus yang telah kehilangan peran dari *Lactobacilli* dan *Bifidobacterium sp.* (Mohan et al., 2017). Contoh prebiotik antara lain frukto-oligosakarida (FOS), inulin, mananoligosakarida (MOS), galaktooligosakarida (GOS).

Prebiotik kini banyak digunakan untuk penanganan obesitas. Prebiotik menurunkan Lipopolisakarida (LPS) dan meningkatkan SCFA. Fruktooligosakarida (FOS) adalah salah satu prebiotik yang memiliki ciri-ciri :

1. Selektif mendukung pertumbuhan *Lactobacillus sp.* dan *Bifidobacterium sp. sp.*
2. Bersifat *bifidogenik*
3. Memiliki rasa tidak terlalu manis
4. Tidak dapat dicerna oleh usus
5. Meningkatkan produksi asam lemak rantai pendek
6. Menurunkan pH kolon dan menghambat pertumbuhan bakteri patogen
7. Memperpendek waktu transit makanan di saluran cerna (Tomastola et al., 2013)

Untuk mendapatkan efek prebiotik, jumlah kebutuhan Fruktooligosakarida (FOS) per hari masih membutuhkan penelitian lebih lanjut. Terdapat penelitian yang menyebutkan 4gram / hari dan ada pula penelitian yang menyebutkan 2,5 gram per hari (Tomastola et al., 2013)



Gambar 2.5 Mekanisme Kerja *Bifidobacterium* sp. dan *Lactobacillus* sp. dalam Tubuh

Sumber : (Delgado & Tamashiro, 2018)

3. Pengaruh Polifenol terhadap Mikrobiota Usus

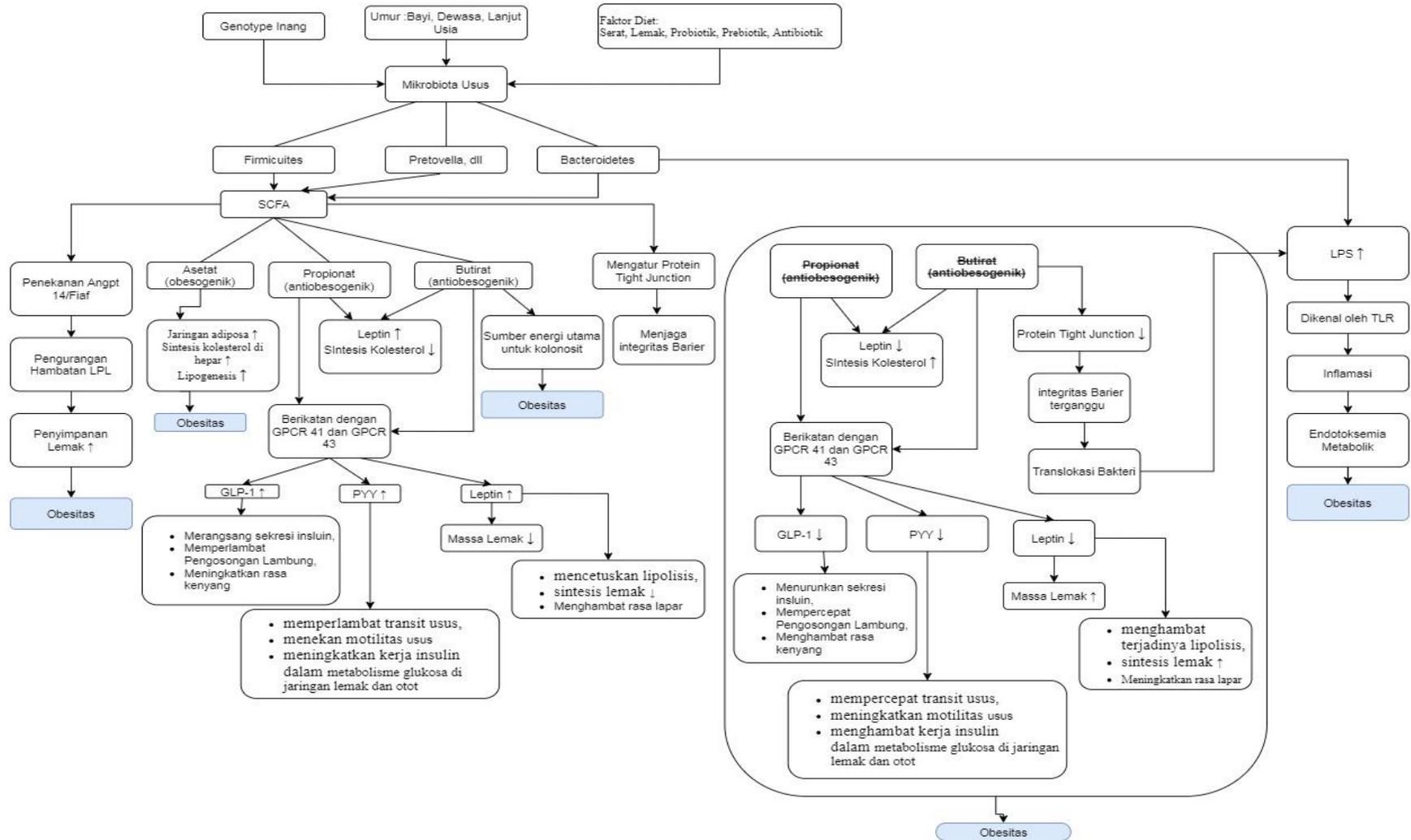
Madu mengandung berbagai polifenol yang baik bagi kesehatan. Terdapat berbagai jenis polifenol, antara lain flavonoid, tanin, antosianin, asam fenolik, dan lain-lain, dimana jenis flavonoid merupakan komponen terbanyak. Madu *trigona* (*Tetragonula Biroi*) memiliki kandungan polifenol dan flavonoid yang tinggi (Syamsul et al., 2020). Kandungan polifenol madu *trigona* lebih tinggi dibandingkan madu *apis* (Kek et al., 2014). Banyak penelitian yang membuktikan bahwa kandungan polifenol yang tinggi pada makanan efektif melawan penyakit kardiovaskuler, kanker, neurodegeneratif dan efek kemoterapi pada pasien (Grosso, 2018)

Polifenol juga memengaruhi mikrobiota usus pada manusia. Penyerapan polifenol dalam saluran pencernaan bagian atas cenderung rendah, sehingga polifenol terakumulasi di kolon dan mengubah komposisi mikrobiota usus. Polifenol mendukung pertumbuhan bakteri

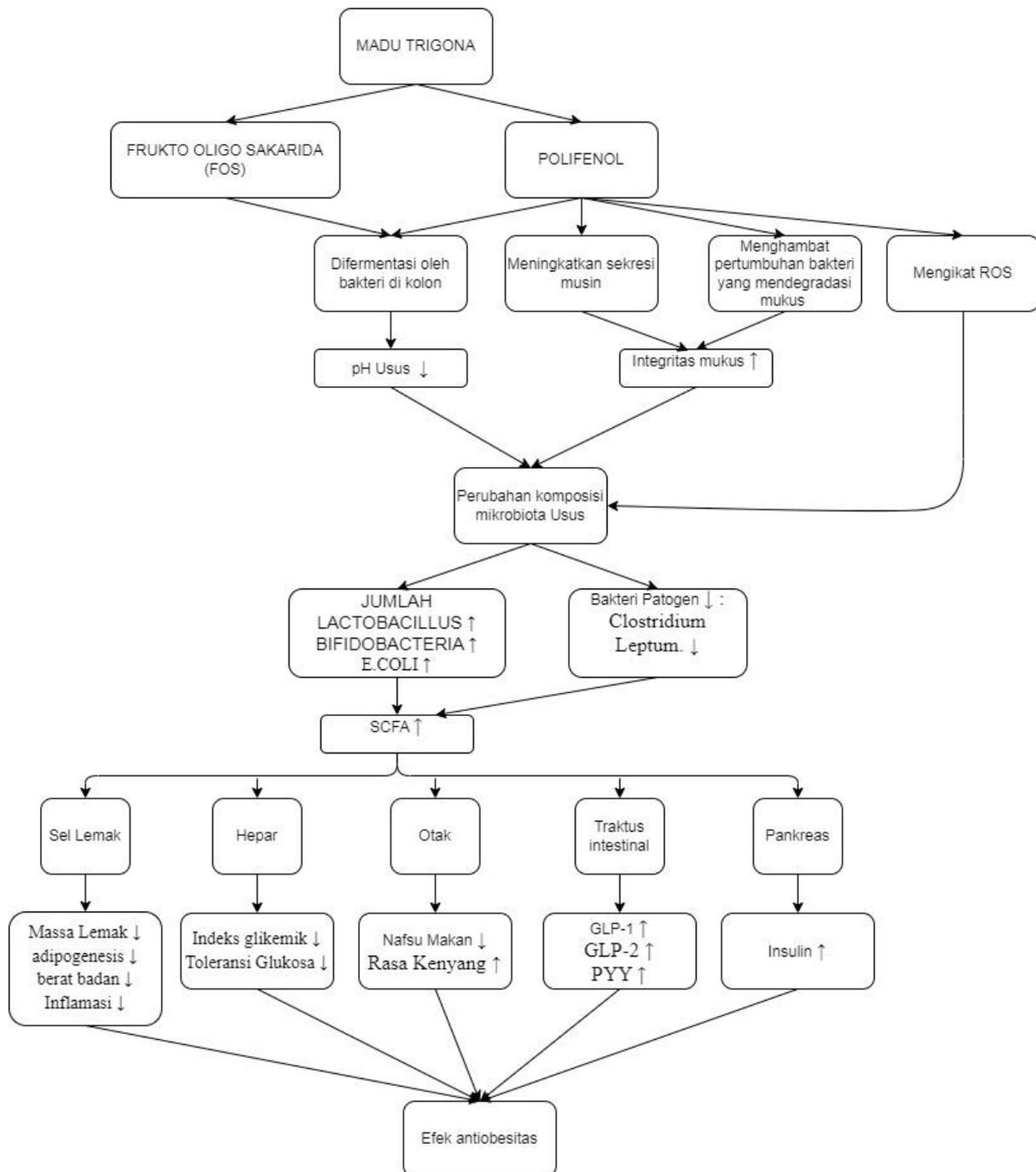
baik dan menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam usus (Catalkaya et al., 2020). Asupan polifenol 396 mg/hari berhasil meningkatkan jumlah *Lactobacillus* dan 540 mg/hari meningkatkan jumlah *Bifidobacterium sp.* sehingga menguntungkan bagi kesehatan (Ma & Chen, 2020)

Selain mengubah komposisi mikrobiota, polifenol juga meningkatkan diversitas mikrobiota usus dengan cara meningkatkan sekresi mukus dan kadar oksigen dalam lumen. Mukus merupakan barier pertama dalam melawan bakteri patogen di traktus intestinal. Polifenol menjaga integritas mukus dengan cara meningkatkan sekresi musin, menghambat pertumbuhan bakteri yang mendegradasi mukus, meningkatkan komposisi mikroba sehingga kehilangan mukus lebih sedikit (Catalkaya et al., 2020). Polifenol memengaruhi kadar oksigen dalam lumen dengan cara mengikat *reactive oxygen species* (ROS) sehingga menjaga homeostasis redoks sistemim dan akhirnya meningkatkan keseimbangan mikrobiota usus (Catalkaya et al., 2020).

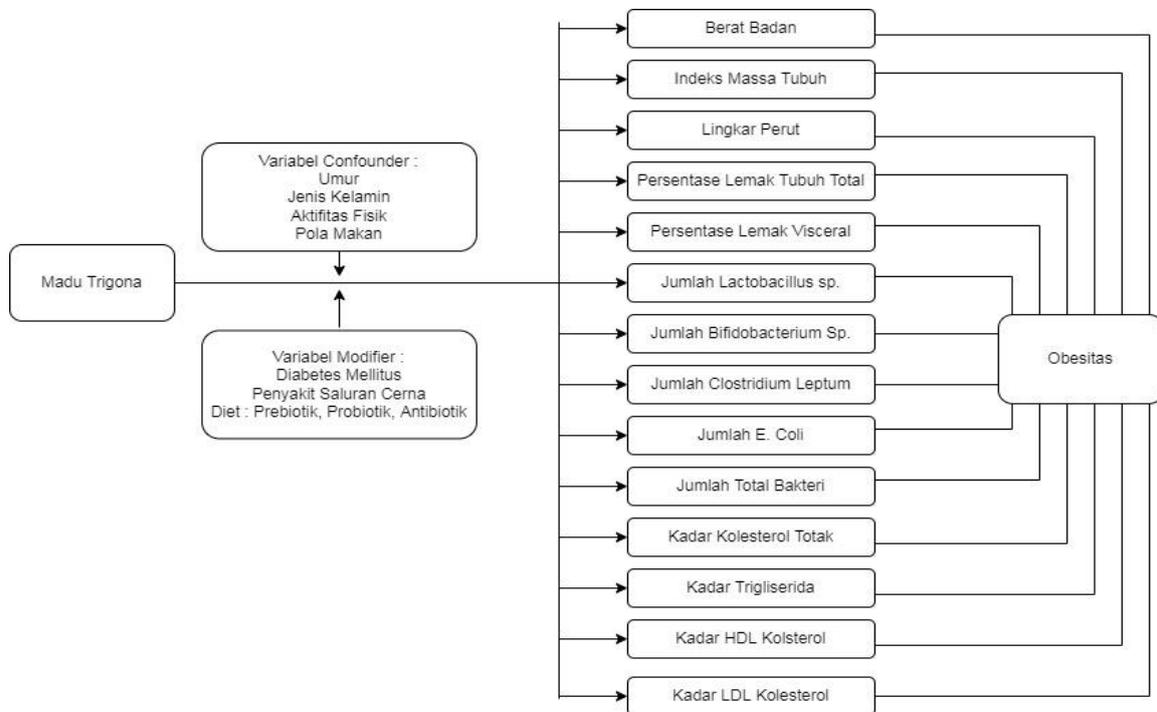
SKEMA MEKANISME MIKROBIOTA USUS MENYEBABKAN OBESITAS



H. Kerangka Teori



I. Kerangka Konsep



J. Definisi Operasional

1. Madu : Madu yang diberikan adalah madu trigona dengan dosis 2x35 gram selama 8 minggu
2. Jumlah *Lactobacillus* sp. : Jumlah *Lactobacillus* sp. dalam 1 ml feces ditentukan melalui RT- PCR
3. Jumlah *Bifidobacterium* sp. sp. : Jumlah *Bifidobacterium* sp. dalam 1 ml feces, ditentukan melalui RT-PCR
4. Jumlah *Clostridium Leptum*. : Jumlah *Clostridium leptum* dalam 1 ml feces, ditentukan melalui RT-PCR

5. Total bakteri : Jumlah semua bakteri dalam 1 ml feces, diukur melalui RT-PCR
6. Lingkar Pinggang, diukur menggunakan meteran dan dalam satuan sentimeter (cm)
7. Indeks Massa Tubuh (IMT) = berat badan (kg) / tinggi badan² (m²)
8. Persentase lemak tubuh, adalah kandungan lemak dalam tubuh yang diukur menggunakan *Body Composition Monitor* merk Tanita.
9. Persentase lemak visceral, adalah kandungan lemak yang berada di sekitar organ dalam yang diukur menggunakan *Body Composition Monitor* merk Tanita
10. Profil Lipid, adalah kadar *High Density Lipoprotein* (HDL), *Low Density Lipoprotein* (LDL), Trigliserida, dan kolesterol total dalam darah.
11. Penyakit/ gangguan saluran cerna : Diare, Ca kolon, Ca lambung, gangguan hepar.
12. Diabetes Melitus : jika kadar Gula Darah Puasa >110 mg/dl atau sedang mengonsumsi obat antidiabetik.
13. Diet : mengonsumsi suplemen khusus ataupun obat-obatan yang berisi probiotik, prebiotik ataupun antibiotik

14. Pola Makan : Jumlah dan jenis makanan yang dikonsumsi, diukur dengan menggunakan metode *food record* selama 7 hari berturut.
15. Aktifitas fisik : kegiatan fisik yang dilakukan, baik berupa latihan fisik terstruktur (olahraga) maupun kegiatan sehari-hari. Diukur menggunakan *Global Physical Activity Questionnaire (IPAQ)*
16. Obesitas, Penentuan status gizi dengan Indeks Massa Tubuh $\geq 27 \text{ kg/m}^2$

K. Hipotesis

1. Madu Trigona meningkatkan jumlah *Lactobacillus sp.* pada subjek dengan obesitas
2. Madu Trigona meningkatkan jumlah *Bifidobacterium sp. sp.* pada subjek dengan obesitas
3. Madu Trigona menurunkan jumlah *Clostridium Leptum* pada subjek dengan obesitas
4. Madu Trigona meningkatkan jumlah *escherichia coli* pada subjek dengan obesitas
5. Madu Trigona menurunkan Indeks Massa Tubuh pada subjek dengan obesitas
6. Madu Trigona menurunkan lingkar perut pada subjek dengan obesitas

7. Madu Trigona menurunkan persentase lemak tubuh total pada subjek dengan obesitas
8. Madu Trigona menurunkan persentase lemak visceral pada subjek dengan obesitas
9. Madu Trigona menurunkan kolesterol total pada subjek dengan obesitas
10. Madu Trigona menurunkan trigliserida pada subjek dengan obesitas
11. Madu Trigona meningkatkan HDL kolesterol. pada subjek dengan obesitas
12. Madu Trigona menurunkan LDL-kolesterol pada subjek dengan obesitas