



# DIVERSITAS MOLEKULER DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN AKTINOBAKTERI ASAL MADU LEBAH *Apis cerana* DAN *Heterotrigena itama*

NURJANAH



PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN PENGETAHUAN ALAM  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2026



## PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

@Hak Cipta IPB University

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Diversitas Molekuler dan Aktivitas Antioksidan Aktinobakteri Asal Madu Lebah *Apis cerana* dan *Heterotrigona itama*” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal dari atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, April 2026

Nurjanah  
G3501231024

## RINGKASAN

NURJANAH. Diversitas Molekuler dan Aktivitas Antioksidan Aktinobakteri Asal Madu Lebah *Apis cerana* dan *Heterotrigona itama*. Dibimbing oleh YULIN LESTARI dan RIKA RAFFIUDIN

Aktinobakteri merupakan salah satu filum bakteri terbesar yang banyak ditemukan di lingkungan terestrial dan akuatik. Aktinobakteri terbagi menjadi dua kelompok, yaitu *Streptomyces* dan non-*Streptomyces*. *Streptomyces* menyumbang sekitar 70–80% senyawa bioaktif dan 80% antibiotik komersial, serta memiliki kemampuan menghasilkan senyawa antioksidan. Non-*Streptomyces* merupakan genus yang relatif lebih sulit dikultur dan hanya dapat tumbuh pada kondisi yang menyerupai habitat aslinya. Madu merupakan salah satu habitat alami yang menarik untuk dieksplorasi keberadaan aktinobakteri. Madu memiliki pH yang asam, namun menunjukkan perbedaan dari segi rasa berdasarkan jenis lebah. Madu yang dihasilkan lebah *Apis cerana* memiliki rasa manis dan *Heterotrigona itama* memiliki rasa asam. Perbedaan rasa madu kemungkinan berpengaruh terhadap keragaman aktinobakteri yang hidup di dalam madu. Aktinobakteri telah ditemukan hidup di dalam madu dan memiliki aktivitas antibakteri. Namun aktivitas antioksidan dari isolat aktinobakteri asal madu masih belum diketahui. Selain itu, informasi mengenai aktinobakteri dari madu lebah *A. cerana* masih terbatas pada lokasi geografis yang dilakukan dan belum ada data aktinobakteri dari *H. itama*. Keragaman aktinobakteri yang sulit diisolasi maka perlu dianalisis dengan *metabarcoding*. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah (1) mengisolasi aktinobakteri dari madu lebah *A. cerana* dan *H. itama*, (2) menguji aktivitas antioksidan dari isolat aktinobakteri asal madu lebah *A. cerana* dan *H. itama*, dan (3) menganalisis keragaman aktinobakteri nonkultur dengan DNA *metabarcoding*.

Madu lebah *A. cerana* dan *H. itama* dikoleksi dari tiga koloni yang hidup secara simpatrik di peternakan lebah di Desa Cijangkar Kec. Nyalindung Kab. Sukabumi. Peternakan lebah berada dalam kondisi alami yang berada jauh dari sumber polusi udara. Parameter fisikokimia madu yang diukur meliputi *electric conductivity*, *total dissolved solids*, pH, kadar air, dan suhu pada madu, serta warna madu. Parameter lingkungan yang juga diukur meliputi kelembapan, elevasi, suhu, intensitas cahaya, dan kecepatan angin. Selain itu, tumbuhan sekitar lokasi peternakan lebah diinventarisasi untuk mengetahui jenis tumbuhan yang menjadi sumber nektar dan mikroba.

Isolasi aktinobakteri dari madu dilakukan menggunakan media *International Streptomyces Project* No.4 (ISP4) dan media *Humic acid-Vitamin* agar. Koloni aktinobakteri yang tumbuh dimurnikan pada media ISP4 dan dikarakterisasi menggunakan tiga jenis media berbeda, yaitu ISP2, ISP4, dan YSA. Isolat diremajakan pada media ISP4 dan diekstraksi DNA-nya. DNA hasil ekstraksi dikirimkan ke jasa sekuensing untuk identifikasi gen *16S rRNA* isolat aktinobakteri. Produksi senyawa bioaktif dilakukan dengan pelarut etil asetat. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Analisis keragaman komunitas aktinobakteri dalam madu dilakukan dengan *Next Generation Sequencing* (NGS) berbasis gen *16S rRNA* pada platform *Oxford Nanopore Technologies* (ONT).



Hasil penelitian ini berhasil mengisolasi aktinobakteri dari madu sebanyak lima isolat. Dua isolat yaitu Ac2.1, Ac2.2 diisolasi dari madu lebah *A. cerana* dan tiga isolat yaitu Hi3.1, Hi3.2, dan Hi3.4 dikultur dari madu lebah *H. itama*. Kelima isolat didapatkan dengan metode pengayaan sebanyak empat isolat dan satu isolat dengan metode pengenceran. Isolat aktinobakteri ini memiliki karakterisasi yang sangat bervariasi berdasarkan warna miselium aerial dan miselium substrat pada tiga media berbeda. Kelima isolat memiliki dua tipe rantai spora, yaitu *Rectiflexibiles* dan *Retinaculiaperti*. Isolat aktinobakteri yang ditemukan termasuk bakteri Gram positif. Kelima isolat diidentifikasi ke dalam genus *Streptomyces*. Keberadaan *Streptomyces* di dalam madu didukung oleh data fisikokimia dari madu. Selain itu, kondisi fisikokimia madu lebah *A. cerana* yaitu pH 3,8-4,2, kadar air: 19,6-21,1%, EC: 0,34-0,79 mS/cm, TDS: 374-400 ppm dan suhu pada madu sekitar 28-30 °C, serta madu berwarna kuning terang. Madu lebah *H. itama* memiliki fisikokimia, yaitu pH 3,3-3,9, kadar air: 25,6-30,2%, EC: 0,99-1,66 mS/cm, TDS: 494-831 ppm, suhu pada madu sekitar 29 °C, serta madu memiliki warna kuning hingga kuning keemasan.

Penelitian uji isolat aktinobakteri yang diperoleh menghasilkan aktivitas antioksidan. Kelima isolat *Streptomyces* dalam uji aktivitas antioksidan ditemukan satu isolat *Streptomyces* kode Hi3.1 memiliki aktivitas antioksidan ( $IC_{50} = 267.09 \mu\text{g/mL}$ ). Sementara itu, dua isolat *Streptomyces* (Hi3.2 dan Hi3.4) dari madu lebah *H. itama* dan dua isolat (Ac2.1 dan Ac2.2) dari madu lebah *A. cerana* tidak memiliki aktivitas antioksidan.

Keragaman aktinobakteri yang belum dapat dikultur dari kedua jenis madu berhasil dideteksi dengan metode *metabarcoding* gen *16S rRNA* sebanyak 111 spesies aktinobakteri. Keragaman aktinobakteri pada madu lebah *A. cerana* ditemukan sebanyak 97 spesies, sedangkan pada madu lebah *H. itama* ditemukan 31 spesies aktinobakteri. Spesies aktinobakteri yang ditemukan pada kedua jenis madu sebanyak 17 spesies. Aktinobakteri yang banyak ditemukan di dalam madu yaitu kelompok non-*Streptomyces* dengan tiga genus yang memiliki kelimpahan tertinggi. Tiga genus yang terdeteksi yaitu *Brevibacterium*, *Brachybacterium*, dan *Sinomonas* yang ditemukan pada kedua jenis madu. Selain itu, kedua jenis madu juga banyak ditemukan genus-genus aktinobakteri dari kelompok non-*Streptomyces* yang kelimpahannya sedang dan rendah.

Genus *Streptomyces* ditemukan dengan kelimpahan sangat kecil pada madu, namun genus ini berhasil diisolasi, sedangkan genus dengan kelimpahan terbanyak masih belum bisa diisolasi menggunakan metode pengayaan dan pengenceran serta media HV dan ISP4. Hasil ini menunjukkan bahwa aktinobakteri banyak ditemukan di dalam madu, namun hanya sebagian kecil yang berhasil diisolasi dengan metode dan media yang digunakan. Aktinobakteri dari madu lebah *A. cerana* memiliki jumlah aktinobakteri yang lebih banyak dan lebih beragam dibandingkan dengan madu lebah *H. itama*. Aktinobakteri dideteksi sebanyak 12,17% hidup di dalam madu. Secara keseluruhan, kelompok non-*Streptomyces* ditemukan sebanyak 98,19% pada madu, sedangkan *Streptomyces* hanya 1,80% di dalam madu.

Kata kunci: Alami, gen *16S rRNA*, isolasi, *metabarcoding*, simpatrik.

## SUMMARY

NURJANAH. Molecular Diversity and Antioxidant Activity of Actinobacteria from Honey of the Bees *Apis cerana* and *Heterotrigona itama*. Supervised by YULIN LESTARI and RIKA RAFFIUDIN.

Actinobacteria are one of the largest bacterial phyla found in terrestrial and aquatic environments. They are generally divided into two groups: *Streptomyces* and non-*Streptomyces*. *Streptomyces* contributes approximately 70–80% of bioactive compounds and 80% of commercial antibiotics, and has the ability to produce antioxidant compounds. Non-*Streptomyces* genera are relatively more difficult to culture and can only grow in conditions that mimic their natural habitat. Honey is an interesting natural habitat for exploring the presence of actinobacteria. Honey has an acidic pH, but shows differences in taste depending on the type of bee. Honey produced by *Apis cerana* has a sweet taste, and *Heterotrigona itama* has a sour taste. Differences in honey taste are likely to influence the diversity of actinobacteria that live in honey. Actinobacteria isolated from honey have been reported to exhibit antibacterial activity. However, the antioxidant activity of actinobacterial isolates from honey remains unknown. The information regarding actinobacteria from *A. cerana* is still limited to the geographical location where it was carried out, and there is no actinobacterial data from *H. itama*. The difficult to isolate diversity of actinobacteria needs to be analyzed using DNA metabarcoding. Therefore, the objectives of this study were (1) to isolate actinobacteria from *A. cerana* and *H. itama* honey, (2) to test the antioxidant activity of actinobacterial isolates from *A. cerana* and *H. itama* honey, and (3) to analyze the diversity of culture-independent actinobacteria using DNA metabarcoding.

Honey was collected from three colonies of *A. cerana* and *H. itama* bees each. The selected bee colonies came from the same farm (*sympatric*) and are located far from sources of air pollution, so the conditions remain natural. Physicochemical parameters of honey were measured, including electrical conductivity, total dissolved solids, pH, water content, and temperature in honey, as well as honey color data. Environmental parameters were also measured as supporting data, including humidity, elevation, temperature, light intensity, and wind speed. The plants around the bee farm were inventoried to identify those that serve as sources of nectar and microbes.

Isolation of actinobacteria from honey was carried out using *International Streptomyces Project* No. 4 (ISP4) agar and *Humic acid* - Vitamin agar media. Actinobacterial colonies that grew were purified on ISP4 agar and characterized using three media: ISP2, ISP4, and YSA. Isolates were rejuvenated on ISP4 media, and their DNA was extracted. The extracted DNA was sent to a sequencing service for identification of the *16S rRNA* gene of actinobacterial isolates. Production of bioactive compounds was carried out using ethyl acetate as a solvent. Antioxidant activity testing was carried out using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. Analysis of the diversity of actinobacterial communities in honey was carried out using *16S rRNA* gene-based *Next Generation Sequencing* (NGS) on the *Oxford Nanopore Technologies* (ONT) platform.

This study successfully isolated five actinobacteria from honey. Two isolates, namely Ac2.1 and Ac2.2, were isolated from *A. cerana* honey, and three



isolates, namely Hi3.1, Hi3.2, and Hi3.4, were cultured from *H. itama* honey. The five isolates were obtained by the enrichment method, with four isolates and one isolate by the dilution method. These actinobacterial isolates exhibit highly variable characteristics, including the color of aerial and substrate mycelia, across three media. The five isolates have two types of spore chains, namely *Rectiflexibiles* and *Retinaculiaperti*. The actinobacterial isolates found are Gram-positive bacteria. The five isolates were identified as the genus *Streptomyces*. Physicochemical data from honey support the presence of *Streptomyces* in honey. The physicochemical conditions of *A. cerana* bee honey are pH 3.8-4.2, water content: 19.6-21.1%, EC: 0.34-0.79 mS/cm, TDS: 374-400 ppm, and the temperature of the honey is around 28-30 °C, and the honey is light amber. *Heterotrigona itama* bee honey has physicochemicals, namely pH 3.3-3.9, water content: 25.6-30.2%, EC: 0.99-1.66 mS/cm, TDS: 494-831 ppm, the temperature of the honey is around 29 °C, and the honey has an extra light amber to amber color.

The study of the actinobacterial isolates obtained showed antioxidant activity. In the antioxidant activity test, one *Streptomyces* isolate, code Hi3.1, had antioxidant activity (IC<sub>50</sub> = 267.09 µg/mL). Meanwhile, two *Streptomyces* isolates (Hi3.2 and Hi3.4) from *H. itama* stingless bee honey and two isolates (Ac2.1 and Ac2.2) from *A. cerana* honey bee did not have antioxidant activity.

The diversity of actinobacteria that could not be cultured in both types of honey was successfully detected by the *16S rRNA* gene *Metabarcoding* method, as many as 111 actinobacterial species. Actinobacterial diversity in *A. cerana* honey was 97 species, while in *H. itama* honey, it was 31 species. A total of 17 actinobacterial species were found in both types of honey. The actinobacteria most abundant in the honey were non-*Streptomyces* species, with the three most abundant genera being *Brevibacterium*, *Brachybacterium*, and *Sinomonas*. Furthermore, non-*Streptomyces* actinobacterial genera with moderate and low abundance were also found in both types of honey.

*Streptomyces* was detected at very low abundance in honey. It was successfully isolated, whereas the most abundant genera could not be isolated using enrichment and dilution methods or HV and ISP4 media. These results indicate that actinobacteria are abundant in honey. However, only a small fraction can be successfully isolated using the applied methods and media. *A. cerana* honey had a greater number and diversity of actinobacteria than *H. itama* honey. Actinobacteria were detected in 12.17% of the honey samples. Overall, non-*Streptomyces* groups were found in 98.19% of the honey samples, while *Streptomyces* made up only 1.80% of the honey samples.

Keywords: Natural, *16S rRNA* gene, isolation, metabarcoding, sympatric.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2026  
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

*Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.*

*Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.*

**DIVERSITAS MOLEKULER DAN AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN AKTINOBAKTERI ASAL  
MADU LEBAH *Apis cerana* DAN *Heterotrigona itama***

**NURJANAH**

Tesis  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Magister Sains pada  
Program Studi Mikrobiologi

**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN PENGETAHUAN ALAM  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2026**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Pengujian Luar Komisi Pembimbing pada Ujian Tesis:  
Dr. Ir. Aris Tjahjoleksono, D. E. A.



IPB University  
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Judul Tesis : Diversitas Molekuler dan Aktivitas Antioksidan Aktinobakteri Asal Madu Lebah *Apis cerana* dan *Heterotrigna itama*  
Nama : Nurjanah  
NIM : G3501231024

Disetujui oleh

Pembimbing 1:  
Prof. Dr. Ir. Yulin Lestari



Digitally signed by:  
Yulin Lestari

Date: 27 Apr 2026 07:57:32 WIB  
Verify at [design.ipb.ac.id](https://design.ipb.ac.id)

Pembimbing 2:  
Prof. Dr. Ir. Rika Raffiudin, M. Si



Digitally signed by:  
Rika Raffiudin

Date: 24 Apr 2026 10:50:42 WIB  
Verify at [design.ipb.ac.id](https://design.ipb.ac.id)

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:  
Prof. Dr. Dra. Anja Meryandini, M.S.  
NIP 19620327 198703 2 001



Digitally signed by:  
Anja Meryandini

Date: 26 Apr 2026 10:50:28 WIB  
Verify at [design.ipb.ac.id](https://design.ipb.ac.id)

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam:  
Dr. Berry Juliandi, S.Si., M. Si  
NIP 197807232007011001



Digitally signed by:  
Berry Juliandi

Date: 27 Apr 2026 09:50:45 WIB  
Verify at [design.ipb.ac.id](https://design.ipb.ac.id)

Tanggal Ujian: 12 Februari 2026

Tanggal Lulus:

## PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian telah dilaksanakan sejak bulan September 2024 sampai bulan Juli 2025 dengan judul “Diversitas Molekuler dan Aktivitas Antioksidan Aktinobakteri Asal Madu Lebah *Apis cerana* dan *Heterotrigona itama*”.

Penulis menyadari bahwa selama penyusunan dan penelitian tesis ini banyak mendapatkan dukungan, arahan, dan bantuan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada

1. Prof. Dr. Ir. Yulin Lestari selaku ketua pembimbing, dan Prof. Dr. Ir. Rika Raffiudin, M. Si sebagai anggota komisi pembimbing yang telah membimbing, memberikan motivasi, memberi saran, dan solusi dari kendala selama proses studi.
2. Prof. Dr. Dra. Anja Meryandini, M.S. selaku Ketua Program Studi Mikrobiologi yang turut memberikan motivasi dan dukungan kepada penulis selama menjalani pendidikan magister di Program Studi Mikrobiologi.
3. Dr. Ir. Aris Tjahjoleksono, D. E. A. selaku penguji luar komisi yang telah memberikan masukan dan saran dalam penyusunan studi.
4. Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melanjutkan studi dengan beasiswa penuh.
5. Pak Tatam Rustaman sebagai pemilik peternakan lebah yang telah memberikan izin untuk mengoleksi sampel madu.
6. Tim koleksi madu (Tiara Sayusti, M. Si, Nadira Madani Hamzah, M. Si, Ici Dianita, S. Pi, pak Adi Wiryadi, Kang Zul dan Kang Aril Hamdani) yang telah membantu dalam pengambilan sampel penelitian penulis.
7. Staf Lab Mikrobiologi IPB (Bu Heni Rismiyati dan Mas Aldian Permana, S. Si), Lab Terpadu IPB (Teh Neneng Karimaryati, A.Md), Lab Fungsi dan Perilaku Hewan (Bu Maysyaroh Yasyri), atas bantuan selama penelitian.
8. Tim di Lab Mikrobiologi IPB (Firda Sri Efendi, M. Si, Ika Setianingsih, M. Si, Adilah Adawiah, M. Si, Dr. Ira Erdiandini, M. Si, Adhi Amanta, S. Si, Orhinta Mutiara Jati, M. Si, Risya Ayudya F, M. Si, dan Sakina Maya Maulawi, M. Si, atas bantuan dan dukungan selama penelitian.
9. Tim di Laboratorium Fungsi dan Perilaku Hewan, dan Biosistemika dan ekologi hewan (Tiara Sayusti, M. Si, Astuti Latif, M.Si, Fikri Irsyad Muhammad, M.Si, Aulia Savira, M.Si, Muhammad Syahril, S.Si, Tazkiana Nurul FS, S.Si, Nurul Wardah Assaumi, S.Si, Muhammad Fadlan Nurhadi, S.Si, Abdullah Fathi Farhat, Sofia Faradina Nagari, S.Si, Aisha Lateefa, S.Si, dan Hidayatus Sholihah Tisniasari, M.Si,) atas bantuan Pra-Lab dan dukungan selama penelitian.
10. Penulis secara khusus mengucapkan terima kasih kepada orang tua, Bapak Naman (alm), Ibu Siti Nurma (alm), kakak dan abang serta seluruh keluarga yang telah memberikan doa, dukungan, kasih sayang kepada penulis hingga dapat menyelesaikan studi.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, April 2026  
Nurjanah



## DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
<b>PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Ruang lingkup	3
<b>II TINJAUAN PUSTAKA</b>	<b>4</b>
2.1 Lebah <i>Apis cerana</i> dan <i>Heterotrigona itama</i>	4
2.2 Madu	5
2.3 Aktinobakteri	7
2.4 Antioksidan	10
2.5 Interaksi antarspesies pada madu	10
2.6 Identifikasi aktinobakteri menggunakan gen <i>16S rRNA</i>	11
2.7 <i>Metabarcoding</i> gen <i>16S rRNA</i>	12
<b>III METODE</b>	<b>14</b>
3.1 Alur Penelitian	14
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.3 Alat dan Bahan	15
3.4 Prosedur kerja	15
3.4.1 Pengambilan sampel dan Pengukuran parameter lingkungan	15
3.4.2 Pengukuran fisikokimia madu	15
3.4.3 Isolasi dan Purifikasi aktinobakteri	16
3.4.4 Karakterisasi morfologi aktinobakteri	16
3.4.5 Identifikasi aktinobakteri berdasarkan Gen <i>16S rRNA</i>	17
3.4.6 Analisis sekuensing dan Kontruksi pohon filogenetik	17
3.4.7 Produksi senyawa bioaktif	18
3.4.8 Pengujian antioksidan	18
3.4.9 Uji hemolisis	19
3.4.10 Pengujian antibakteri	19
3.4.11 <i>Metabarcoding</i> madu berdasarkan gen <i>16S rRNA</i>	19
3.4.12 Analisis Bioinformatika	20
<b>IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	<b>21</b>
4.1 Kondisi lingkungan dari madu lebah <i>A. cerana</i> dan <i>H. itama</i>	21
4.2 Sifat fisikokimia madu lebah <i>A. cerana</i> dan <i>H. itama</i>	23
4.3 Isolat aktinobakteri asal madu lebah <i>A. cerana</i> dan <i>H. itama</i>	25
4.4 Identifikasi molekuler isolat aktinobakteri berdasarkan gen <i>16S rRNA</i>	31

4.5	Aktivitas antioksidan isolat aktinobakteri asal madu	34
4.6	Keragaman bakteri dari madu lebah <i>A. cerana</i> dan <i>H. itama</i>	37
4.7	Analisis aktinobakteri nonkultur pada madu	42

V	SIMPULAN DAN SARAN	57
---	--------------------	----

	DAFTAR PUSTAKA	58
--	----------------	----

	LAMPIRAN	77
--	----------	----

	RIWAYAT HIDUP	83
--	---------------	----

## DAFTAR TABEL

1	Aktinobakteri yang berhasil diisolasi dari madu	9
2	Aktinobakteri yang terdeteksi dengan <i>Metabarcoding</i> gen <i>16S rRNA</i> pada madu	13
3	Data lingkungan pengambilan sampel madu di Desa Cijangkar Kab Sukabumi.	21
4	Fisikokimia madu lebah <i>A. cerana</i> dan <i>H. itama</i>	23
5	Pertumbuhan isolat aktinobakteri berdasarkan media pertumbuhan dan metode isolasi	26
6	Karakterisasi warna miselium aktinobakteri	28
7	Keragaman morfologi makroskopik aktinobakteri	29
8	Konsentrasi dan kemurnian DNA genom isolat aktinobakteri	32
9	Hasil BLASTN sekuen aktinobakteri asal madu dibandingkan dengan sekuen yang homolog berdasarkan pada urutan gen <i>16S rRNA</i>	33
10	Nilai IC <sub>50</sub> ekstrak kasar aktinobakteri	35
11	Konsentrasi dan kemurnian DNA genom dari madu <i>A. cerana</i> dan <i>H. itama</i>	37
12	Persentase sepuluh kelimpahan relatif teratas aktinobakteri pada madu lebah <i>A. cerana</i> dan <i>H. itama</i>	42
13	Aktinobakteri yang ditemukan pada madu <i>A. cerana</i> dan <i>H. itama</i>	47



## DAFTAR GAMBAR

1	Bentuk sarang lebah	4
2	Bentuk rantai spora yang dihasilkan oleh aktinobakteri	9
3	Proses reduksi DPPH	10
4	Tahapan <i>Polymerase Chain Reaction</i>	11
5	Perbandingan prosedur DNA <i>metabarcoding</i> dan metode Metagenomic	12
6	Alur penelitian	14
7	Lokasi pengambilan sampel madu di Desa Cijangkar, Kecamatan Nyalindung, Kabupaten Sukabumi, Jawa Bara	22
8	Keragaman pertumbuhan aktinobakteri dari madu berumur 14 hari pada media ISP4	27
9	Keragaman morfologi koloni aktinobakteri pada media ISP2, ISP4 dan YSA menggunakan mikroskop stereo, perbesaran 40x	28
10	Keunikan isolat HI32 menghasilkan pigmentasi pada umur 25 hari dan eksudan pada umur 14 hari	30
11	Tipe rantai spora dan bentuk sel aktinobakteri umur pertumbuhan 7 hari menggunakan mikroskop Leica, perbesaran 40x dengan <i>Slide culture</i>	31
12	Pewarnaan Gram isolat aktinobakteri	31
13	Visualisasi amplikon gen <i>16S rRNA</i> isolat aktinobakteri ( $\pm 1465$ bp)	32
14	Pohon filogenetik aktinobakteri dari madu <i>A. cerana</i> dan <i>H. itama</i> berdasarkan gen <i>16S rRNA</i> yang berkerabat dekat dengan kelompok aktinobakteri lainnya maupun di luar kelompok. Pohon filogenetik ini dibangun menggunakan metode <i>Neighbor Joining</i> dengan <i>bootstrap</i> 1,000x replikasi.	34
15	Amplikon gen <i>16S rRNA</i> dari madu ( $\pm 1465$ bp).	38
16	Diagram Venn yang menunjukkan jumlah OTU bakteri pada madu <i>A. cerana</i> (AC) dan <i>H. itama</i> (HI)	38
17	Keragaman komunitas bakteri dari madu <i>A. cerana</i> (AC) dan <i>H. itama</i> (HI)	39
18	Kelimpahan relatif 50 spesies bakteri teratas pada madu <i>A. cerana</i> dan <i>H. itama</i> .	41
19	Diagram Venn yang menunjukkan jumlah aktinobakteri pada madu <i>A. cerana</i> (AC) dan <i>H. itama</i> (HI)	43
20	Kelimpahan relatif 50 spesies aktinobakteri teratas pada madu <i>A. cerana</i> dan <i>H. itama</i> .	46

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## DAFTAR LAMPIRAN

1	Komposisi media ISP2, ISP4 dan YSA	77
2	Keragaman miselium substrat isolat aktinobakteri madu	78
3	Uji kualitatif aktivitas antioksidan isolat aktinobakteri dan Vitamin C	78
4	Kurva isolat aktinobakteri dan persamaan regresi	79
5	Kurva standar dan persamaan regresi asam askorbat (Vitamin C)	80
6	Tumbuhan-tumbuhan disekitar lokasi peternakan lebah sejauh $\pm 500$ m	81
7	Madu lebah <i>A. cerana</i> berdasarkan urutan perkoloni	82
8	Madu lebah <i>A. cerana</i> berdasarkan urutan dari warna terang ke gelap	82
9	Madu lebah <i>H. itama</i> berdasarkan urutan perkoloni	82
10	Madu lebah <i>H. itama</i> berdasarkan urutan dari warna terang ke gelap	82
11	Respon hemolitik isolat aktinobakteri	83
12	Aktivitas antibakteri pada <i>Enteropathogenic Escherichia coli</i> (EPEC) K1-1 dengan metode cakram pada media <i>Mueller Hinton Agar</i>	83

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.