

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KARAKTERISASI METABOLIT SEKUNDER DARI BAKTERI ENDOFIT *ASAL Hoya diversifolia*

NABILA AMARA PUTRI



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



@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 mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Aktivitas Antioksidan dan Karakterisasi Metabolit Sekunder dari Bakteri Endofit Asal *Hoya diversifolia*” merupakan hasil karya ilmiah yang saya susun sendiri di bawah bimbingan dan arahan dosen pembimbing. Karya ilmiah ini belum pernah diajukan, baik sebagian maupun seluruhnya, sebagai syarat untuk memperoleh gelar akademik pada perguruan tinggi manapun. Seluruh informasi, data, maupun pendapat dari karya penulis lain, telah dirujuk dan dicantumkan pada daftar pustaka sesuai dengan kaidah penulisan ilmiah.

Sebagai bentuk kepatuhan terhadap ketentuan yang berlaku, saya menyerahkan hak cipta atas karya tulis ini kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2026

Nabila Amara Putri
G3501241018



@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 mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

RINGKASAN

NABILA AMARA PUTRI. Aktivitas Antioksidan dan Karakterisasi Metabolit Sekunder dari Bakteri Endofit Asal *Hoya diversifolia*. Dibimbing oleh NISA RACHMANIA MUBARIK dan SRI RAHAYU.

Stres oksidatif merupakan suatu kondisi patofisiologis yang timbul sebagai konsekuensi dari ketidakseimbangan antara laju produksi *reactive oxygen species* (ROS) dengan kapasitas sistem pertahanan antioksidan endogen dalam menetralsirnya, sehingga berkontribusi terhadap berbagai penyakit degeneratif. Kondisi tersebut mendorong pencarian sumber antioksidan alami yang berkelanjutan, salah satu di antaranya merupakan bakteri endofit yang berperan dalam biosintesis metabolit bioaktif. *Hoya diversifolia* diketahui mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan, tetapi bakteri endofit yang berasosiasi dengannya masih belum banyak dieksplorasi. Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri endofit asal *H. diversifolia*, mengevaluasi aktivitas antioksidan ekstrak kasar bakteri endofit, serta mengkarakterisasi metabolit putatif dari ekstrak kasar bakteri endofit.

Penelitian dilakukan melalui isolasi bakteri endofit dari daun dan bunga *H. diversifolia*, karakterisasi morfologi koloni dan pewarnaan Gram, skrining patogenisitas, ekstraksi metabolit menggunakan etil asetat, pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, identifikasi molekuler berdasarkan gen 16S rRNA, serta analisis profil metabolit menggunakan LC–HRMS yang dilanjutkan dengan anotasi metabolit putatif.

Sebanyak 16 isolat bakteri endofit berhasil diperoleh, yang terdiri atas 14 isolat berasal dari bagian bunga dan 2 isolat lainnya berasal dari bagian daun. Berdasarkan karakteristik morfologi dan pewarnaan Gram, empat isolat dipilih untuk analisis lanjutan. Seluruh isolat menunjukkan γ -hemolisis dan tidak menimbulkan reaksi hipersensitivitas. Di antara seluruh isolat, HDF7 menghasilkan rendemen ekstrak kasar tertinggi 0,195% serta Kapasitas antioksidan yang cukup kuat teramati, dengan nilai IC_{50} mencapai $29,88 \pm 5,06 \mu\text{g/mL}$. Identifikasi molekuler melalui analisis gen 16S rRNA menunjukkan bahwa isolat HDF7 berkerabat paling dekat dengan anggota genus *Pseudomonas* *juntendi* BML3. Analisis LC–HRMS mengungkap keberadaan beberapa metabolit putatif, yaitu scopoletin, quinic acid, L-tryptophan, indole-3-ethanol, *N*-heptanoyl-L-homoserine lactone, dan citric acid, yang diduga berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri endofit yang berasosiasi dengan *H. diversifolia*, khususnya isolat HDF7, berpotensi sebagai sumber metabolit antioksidan alami dan layak dikembangkan lebih lanjut melalui penelitian mengenai identifikasi senyawa serta evaluasi bioaktivitasnya.

Kata kunci: Antioksidan, bakteri endofit, *Hoya diversifolia*, LC-HRMS, *Pseudomonas juntendi*.



SUMMARY

NABILA AMARA PUTRI. Antioxidant Activity and Secondary Metabolite Profiling of an Endophytic Bacterium Isolated from *Hoya diversifolia*. Supervised by NISA RACHMANIA MUBARIK and SRI RAHAYU.

Oxidative stress results from an imbalance between the production of reactive oxygen species (ROS) and the antioxidant defense system, contributing to the development of various degenerative diseases. This condition has driven the search for sustainable natural antioxidants, including endophytic bacteria, which are capable of producing bioactive metabolites. *Hoya diversifolia* is known to contain compounds with antioxidant potential. However, the endophytic bacteria associated with this plant remain largely unexplored. This study aimed to isolate and identify endophytic bacteria from *H. diversifolia*, evaluate the antioxidant activity of their crude extract, and characterize the putative metabolites from the crude extract.

The study involved the isolation of endophytic bacteria from the leaves and flowers of *H. diversifolia*, followed by colony morphology and Gram-staining characterization, pathogenicity screening, metabolite extraction using ethyl acetate, evaluation of antioxidant activity by the DPPH radical scavenging assay, molecular identification based on 16S rRNA gene sequencing, and metabolite profiling using LC–HRMS, followed by putative metabolite annotation.

A total of 16 endophytic bacterial isolates were successfully obtained, comprising 14 isolates from flowers and two from leaves. Based on colony morphology and Gram-staining characteristics, four representative isolates were selected for further analysis. All isolates exhibited γ -hemolysis and did not induce a hypersensitive response. Among the tested isolates, HDF7 produced the highest crude extract yield (0.195%) and exhibited strong antioxidant activity, with an IC_{50} value of $29.88 \pm 5.06 \mu\text{g/mL}$. Analysis of the 16S rRNA gene revealed that HDF7 was most closely related to *Pseudomonas juntendi* BML3. LC–HRMS analysis identified several putative metabolites, including scopoletin, quinic acid, L-tryptophan, indole-3-ethanol, *N*-heptanoyl-L-homoserine lactone, and citric acid, which are presumed to contribute to the antioxidant activity of the crude extract. These findings demonstrate that endophytic bacteria associated with *H. diversifolia*, particularly isolate HDF7, have considerable potential as a source of natural antioxidant metabolites and warrant further investigation for compound identification and bioactivity evaluation.

Keywords: *Antioxidant, endophytic bacteria, Hoya diversifolia, LC-HRMS, Pseudomonas juntendi.*



@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.



@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 mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KARAKTERISASI
METABOLIT SEKUNDER DARI BAKTERI ENDOFIT ASAL**
Hoya diversifolia

NABILA AMARA PUTRI

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

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



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Penguji Luar Komisi Pembimbing pada ujian Tesis:
Dr. Dwi Ningsih Susilowati S.TP., M.Si.



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.

Perpustakaan IPB University



Judul Tesis : Aktivitas Antioksidan dan Karakterisasi Metabolit Sekunder dari
Bakteri Endofit Asal *Hoya diversifolia*
Nama : Nabila Amara Putri
NIM : G3501241018

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr. Nisa Rachmania Mubarik, M.Si.



Pembimbing 2:
Prof. Dr. Sri Rahayu, M.Si.

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. Dr. Dra. Anja Meryandini M.S.
NIP 19620327 198703 2001

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Dr. Berry Juliandi, S.Si., M.Si.
NIP 19780723 200701 1001

Tanggal Ujian: 12 Agustus 2026

Tanggal Lulus:



@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 mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat, karunia, serta pertolongan yang telah diberikan sehingga penulisan tesis ini dapat diselesaikan dengan baik. Tesis berjudul "Aktivitas Antioksidan dan Karakterisasi Metabolit Sekunder dari Bakteri Endofit Asal *Hoya diversifolia*" ini disusun guna memenuhi salah satu persyaratan dalam memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Magister Mikrobiologi, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Penelitian ini dilaksanakan sejak bulan Agustus 2025 hingga bulan Maret 2026.

Terselesaikannya tesis ini tidak lepas dari dukungan, bimbingan, dan bantuan berbagai pihak. Untuk itu, penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan ucapan terima kasih yang mendalam kepada Dr. Nisa Rachmania Mubarik, M.Si. selaku Ketua Komisi Pembimbing, serta Prof. Dr. Sri Rahayu, M.Si. selaku Anggota Komisi Pembimbing, yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan, memberi saran, serta memberikan motivasi dan dukungan sejak tahap penelitian hingga penyusunan tesis ini rampung. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada Dr. Dwi Ningsih Susilowati S.TP., M.Si. selaku dosen penguji atas saran dan perbaikan yang diberikan.

Terima kasih pula penulis sampaikan kepada Prof. Dr. Dra. Anja Meryandini, M.S. selaku Ketua Program Studi Magister Mikrobiologi, atas segala arahan, perhatian, dan dukungan yang diberikan selama penulis menjalani masa studi. Penghargaan juga penulis tujukan kepada segenap dosen pengajar di Program Studi Magister Mikrobiologi atas ilmu, wawasan, dan pengalaman berharga yang dibagikan selama perkuliahan, yang menjadi bekal penting dalam penelitian dan penyusunan tesis ini.

Tidak lupa, penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh tenaga kependidikan, laboran, serta staf administrasi Program Studi Magister Mikrobiologi atas segala bantuan, pelayanan, dan kemudahan yang diberikan selama penulis menjalani aktivitas akademik maupun penelitian.

Rasa terima kasih dan penghargaan setulus-tulusnya penulis persembahkan kepada ayah, ibu, adik, dan seluruh keluarga besar atas doa, kasih sayang, pengorbanan, kesabaran, serta dukungan tanpa henti selama penulis menempuh pendidikan. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada para sahabat dan rekan mahasiswa Magister Mikrobiologi 2024 atas kebersamaan, bantuan, semangat, dan wawasan yang diberikan sepanjang masa studi hingga penyelesaian tesis ini.

Bogor, Agustus 2026

Nabila Amara Putri

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	2
DAFTAR GAMBAR	2
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Stres Oksidatif dan <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS)	3
2.2 Antioksidan	4
2.3 Bakteri Endofit	6
2.4 <i>Hoya diversifolia</i>	7
2.5 Metabolomik dan LC-HRMS	9
III METODE	10
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	10
3.2 Alur Penelitian	10
3.3 Alat dan Bahan	11
3.4 Prosedur Kerja	11
3.5 Analisis Data	15
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit	16
4.2 Skrining Patogenitas Isolat Bakteri Endofit	17
4.3 Produksi dan Ekstraksi Metabolit dari Bakteri Endofit	18
4.4 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar HDF7	19
4.5 Identifikasi Molekuler Berdasarkan Analisis Gen 16S rRNA	20
4.6 Anotasi Metabolit yang Berpotensi Berperan sebagai Antioksidan Berdasarkan Analisis LC-HRMS pada Ekstrak Kasar Bakteri Endofit	21
V SIMPULAN DAN SARAN	25
5.1 Simpulan	25
5.2 Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	33
RIWAYAT HIDUP	51



DAFTAR TABEL

1	Bakteri endofit dengan aktivitas antioksidan yang berasal dari tanaman	7
2	Senyawa antioksidan dari bagian daun <i>Hoya diversifolia</i>	8
3	Karakteristik morfologi koloni dan hasil pewarnaan Gram pada isolat bakteri endofit terpilih yang berhasil diisolasi dari <i>Hoya diversifolia</i>	16
4	Skrining patogenisitas isolat bakteri endofit terpilih berdasarkan uji hemolisis dan reaksi hipersensitif	18
5	Rendemen ekstrak kasar yang diperoleh dari isolat bakteri endofit terpilih asal <i>Hoya diversifolia</i>	19
6	Aktivitas inhibisi radikal DPPH pada berbagai konsentrasi	19
7	Nilai IC ₅₀ ekstrak metabolit kasar isolat HDF7 pada uji DPPH	20
8	Metabolit putatif pada ekstrak kasar isolat HDF7 berdasarkan analisis LC-HRMS	22

DAFTAR GAMBAR

1	Skema produksi dan eliminasi spesies oksigen reaktif	4
2	Senyawa antioksidan yang diidentifikasi dari metabolom mikroorganisme endofit	5
3	Jalur transmisi bakteri endofit selama siklus hidup tanaman melalui transmisi vertikal dan horizontal	6
4	Tanaman <i>Hoya diversifolia</i>	8
5	Diagram alir penelitian	10
6	Pohon filogenetik	21
7	Profil kromatogram LC-HRMS ekstrak kasar isolat HDF7	22

DAFTAR LAMPIRAN

1	Isolat Hasil Isolasi	34
2	Pewarnaan Gram Isolat Hasil Isolasi	38
3	Uji Hemolisis Isolat Hasil Isolasi	41
4	Kurva standar jumlah bakteri untuk produksi metabolit	43
5	Pengukuran dan perhitungan nilai IC ₅₀ HDF7	45
6	Pengukuran dan perhitungan nilai IC ₅₀ asam askorbat	46
7	Konsentrasi dan kemurnian DNA hasil isolasi genom	47
8	Sekuens parsial gen penyandi 16S rRNA hasil sekuensing isolat HDF7	48
9	Kromatogram LC-HRMS	49