

**IDENTIFIKASI AKTIVITAS ANTAGONIS AKTINOMISETES
TERHADAP *Escherichia coli* YANG DIISOLASI DARI TANAH
MANGROVE WONOREJO SURABAYA**

KARYA TULIS ILMIAH



MIRZHA RIZWANDA PUSPA NEGARA
NIM : P27834017011

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES SURABAYA
PROGRAM STUDI D3 ANALIS KESEHATAN
2020**

**IDENTIFIKASI AKTIVITAS ANTAGONIS AKTINOMISETES
TERHADAP *Escherichia coli* YANG DIISOLASI DARI TANAH
MANGROVE WONOREJO SURABAYA**

**Karya Tulis Ilmiah ini diajukan
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Ahli Madya Analis Kesehatan**



**MIRZHA RIZWANDA PUSPA NEGARA
NIM : P27834017011**

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES SURABAYA
PROGRAM STUDI D3 ANALIS KESEHATAN
2020**

LEMBAR PERSETUJUAN

**IDENTIFIKASI AKTIVITAS ANTAGONIS AKTINOMISETES
TERHADAP *Escherichia coli* YANG DIISOLASI DARI TANAH
MANGROVE WONOREJO SURABAYA**

Oleh:
MIRZHA RIZWANDA PUSPA NEGARA
NIM. P27834017011

**Karya Tulis Ilmiah ini telah diperiksa dan disetujui isi dan susunannya
sehingga dapat diajukan pada Ujian Sidang Karya Tulis Ilmiah yang
diselenggarakan oleh Program Studi Diploma III Jurusan Analis Kesehatan
Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya**

Surabaya, Juni 2020

Pembimbing I



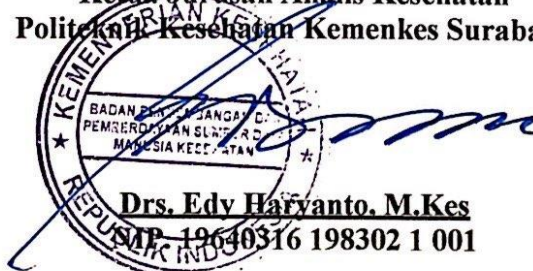
Drh. Diah Titik Mutiarawati, M. Kes
NIP. 19580806 199103 2 001

Pembimbing II



Anita Dwi Anggraini, S.ST, M.Si
NIP. 19880804 201012 2 001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Analis Kesehatan
Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya



Drs. Edy Haryanto, M.Kes
NIP. 19640316 198302 1 001

LEMBAR PENGESAHAN

**IDENTIFIKASI AKTIVITAS ANTAGONIS AKTINOMISETES
TERHADAP *Escherichia coli* YANG DIISOLASI DARI TANAH
MANGROVE WONOREJO SURABAYA**

Oleh:

MIRZHA RIZWANDA PUSPA NEGARA

NIM. P27834017011

Karya Tulis Ilmiah ini telah dipertahankan dihadapan
Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Jenjang Pendidikan Tinggi Diploma III
Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya

Surabaya, Juni 2020

Tim Penguji

Tanda Tangan

Penguji I : Drh. Diah Titik Mutiarawati, M. Kes
NIP. 19580806 199103 2 001



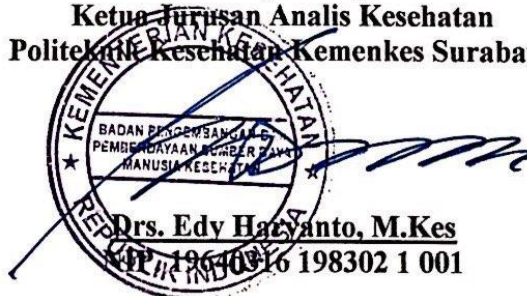
Penguji II : Anita Dwi Anggraini, S.ST, M.Si
NIP. 19880804 201012 2 001



Penguji III : Christ Kartika Rahayuningsih, ST, M. Si
NIP. 19820612 200912 2 001



Mengetahui,
Ketua Jurusan Analis Kesehatan
Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya



Drs. Edy Haryanto, M.Kes
NIP. 19640316 198302 1 001

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Bermimpilah seakan kau hidup selamanya. Hiduplah seakan kau mati hari ini.

-James Dean

PERSEMBAHAN

Karya Tulis Ilmiah ini saya persembahkan kepada kedua orang tua saya, kakak, saudara, teman dan sahabat, serta semua pihak yang telah memberikan doa, bantuan, dukungan dan motivasi dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.

ABSTRAK

Aktinomisetes merupakan bakteri Gram positif berfilamen yang merupakan sumber utama penghasil antibiotika. Aktinomisetes adalah salah satu mikroba yang ditemukan di alam. Kelimpahan aktinomisetes di lingkungan sekitar (khususnya bagian rhizosfer), tersebar dari mulai zona tanah yang bersifat aerob, zona perairan maupun sedimen wilayah laut. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antagonis isolat aktinomisetes yang diisolasi dari hutan Mangrove Wonorejo Surabaya terhadap bakteri *Escherichia coli*. Isolat aktinomisetes diambil dari 3 titik lokasi tanah yang berbeda, dilakukan pretreatment dengan cara panas (heatshock treatment) pada suhu 90°C selama 15. Aktinomisetes diisolasi pada medium SCA (Starch Casein Agar) yang telah ditambahkan dengan Nystatin 0,002%. Seleksi isolate senyawa penghasil antimikroba berdasarkan metode difusi keping agar yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat disekitar keping agar isolat aktinomisetes. Hasil penelitian menunjukkan dari 3 lokasi pengambilan sampel tanah dengan replikasi sebanyak 2 kali didapatkan 6 isolat aktinomisetes, namun hanya 2 isolat yang mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* dengan dengan kode isolat B_1^{-2} 2 dengan diameter zona bening sebesar 0,5 mm dan kode isolat C_2^{-4} 4 dengan diameter zona bening sebesar 0,6 mm.

Kata kunci : *Aktinomisetes*, *Hutan Mangrove Wonorejo Surabaya*, *Aktivitas antibakteri*, *Bakteri Escherichia coli*.

ABSTRACT

Actinomycetes are filamentous Gram-positive bacteria which are the main source of antibiotic-producing. Actinomycetes are one of microbe which found in nature. The abundance of actinomycetes in the surrounding environment (especially the rhizosphere), is spread from aerobic land zones, water zones and marine area sediments. The purpose of this research was to know the antagonist activity of actinomycetes isolate isolated from Mangrove forest Wonorejo Surabaya against *Escherichia coli* bacteria. Actinomycetes isolate were taken from 3 different locations, pretreatment by heat treatment (heatshock treatment) at 90°C for 15 minutes. Actinomycetes isolated in SCA medium (Starch Casein Agar) which added with Nystatin 0,002%. Selection of antimicrobial-producing compound isolates based on the agar chip diffusion method which is characterized by the formation of inhibitory zones around the pieces to actinomycetes isolates. The result of the study showed from 3 locations of soil sampling with 2 replications, 6 isolates of actinomycetes, but only 2 isolates that can inhibit *Escherichia coli* bacteria with isolates code B_1^{-2} 2 with a clear zone diameter of 0.5 mm and isolate code with a clear zone diameter of 0.6 mm.

Key words: *Actinomycetes, Mangrove Forest Wonorejo Surabaya. Activity of antibacterial, Escherichia coli Bacteria.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT atas segala berkah dan karunia-Nya yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “IDENTIFIKASI AKTIVITAS ANTIBAKTERI AKTINOMISETES TERHADAP *Escherichia coli* YANG DIISOLASI DARI TANAH MANGROVE WONOREJO SURABAYA”.

Proposal Karya Tulis Ilmiah ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan jenjang pendidikan Diploma III Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan proposal Karya Tulis Ilmiah ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu penulis mohon dengan segala kerendahan hati, pembaca berkenan memberikan kritik dan saran yang membangun guna kesempurnaan penulisan dimasa yang akan datang. Penulis berharap semoga karya tulis ilmiah ini bermanfaat bagi pembaca khususnya dan bagi masyarakat pada umumnya.

Surabaya, Desember 2019

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini tidak akan berhasil tanpa adanya pihak yang membantu dalam melancarkan penelitian dan penulisan Karya Tulis Ilmiah ini. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Drs. Edy Haryanto, M. Kes, selaku Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya.
2. Ibu Suliati, S. Pd, S. Si, M. Kes, selaku Kepala Prodi DIII Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya.
3. Ibu Drh. Diah Titik Mutiarawati, M. Kes, selaku dosen pembimbing I yang telah meluangkan waktunya dalam memberikan bimbingan, arahan , nasihat, kritik dan saran serta dukungan sehingga karya tulis ini dapat terwujud.
4. Ibu Anita Dwi Anggraini, S.ST, M.Si, selaku dosen pembimbing II yang telah meluangkan waktunya dalam memberikan bimbingan, arahan , nasihat, kritik dan saran serta dukungan sehingga karya tulis ini dapat terwujud.
5. Ibu Christ Kartika Rahayuningsih, ST, M. Si, selaku dosen pempenguji yang telah meluangkan waktunya dalam memberikan bimbingan, arahan , nasihat, kritik dan saran serta dukungan sehingga karya tulis ini dapat terwujud.
6. Bapak Ratno Tri Utomo, S. ST, selaku penanggungjawab laboratorium yang telah memberikan izin dalam peminjaman laboratorium dan alat dalam pelaksanaan penelitian.

7. Bapak Ibu Dosen, Staff, serta Karyawan Jurusan Analis Kesehatan yang telah memberikan ilmu, waktu, pengalaman, dan memberikan bantuan kepada penulis selama penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
8. Kedua orang tua saya, yang telah memberikan banyak doa, dukungan, motivasi dan nasihat demi keberhasilan saya.
9. Kakak saya (Mas Dimas) dan saudara saya (Ines, Nia, Nisa) yang telah memberikan dukungan dan semangat dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
10. Teman-teman D3 Analis Kesehatan Angkatan 2017 yang telah memberikan semangat dan dukungan satu sama lain.
11. Teman saya, El yang telah banyak membantu dan mendengarkan keluh kesah saya.
12. Teman-teman satu bidang penelitian Mbak Sahda, Mbak Bela yang telah berjuang bersama dan membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.
13. Teman saya (Tiwi dan Vita) yang selalu mendengarkan keluh kesah saya dan memberi support saya.
14. Teman-teman penelitian mikrobiologi (Habiba, Mufidah, Aghnia, Mbak Fiya) yang telah membantu dalam penelitian ini dan telah berjuang bersama dalam menyelesaikan penelitian.
15. Teman saya Vernanda yang selalu memberi semangat dan mendengarkan keluh kesah saya.
16. Teman kos karangmenjangan 1B No. 8 (Ani, Vero, Indah)
17. Teman-teman satu bimbingan Sas, Astrid W yang telah berjuang bersama dan telah memberikan support.

18. Teman-teman Imatelki (Ayu dan Berta) yang telah memberikan semangat dalam menyelesaikan penelitian ini.
19. Teman SMA (Ardhalia dan Rama) yang selalu memberi support dan membantu saya dalam menyelesaikan penelitian ini.
20. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung yang tidak bisa disebutkan satu-satu dalam kesempatan ini.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
UCAPAN TERIMA KASIH	viii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah.....	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.4.1 Tujuan Umum.....	3
1.4.2 Tujuan Khusus.....	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
1.5.1 Manfaat Teoritis	3
1.5.2 Manfaat Praktis.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Aktinomisetes.....	5
2.1.1 Karakteristik Aktinomisetes	5
2.1.2 Klasifikasi Aktinomisetes	7
2.1.3 Morfologi Aktinomisetes	7
2.1.4 Habitat Aktinomisetes	10
2.1.5 Identifikasi Aktinomisetes	12
2.2 Metabolit Sekunder	13
2.3 Ekosistem Mangrove.....	14
2.3.1 Karakteristik Mangrove.....	14
2.3.2 Zonasi Hutan Mangrove.....	15
2.3.3 Fungsi dan Peran Ekosistem Mangrove	15
2.3.4 Struktur Vegetasi Mangrove	16
2.4 <i>Escherichia coli</i>	17
2.4.1 Karakteristik <i>Escherichia coli</i>	17
2.4.2 Klasifikasi <i>Escherichia coli</i>	18
2.4.3 Patogenitas <i>Escherichia coli</i>	19
2.5 Antibakteri.....	20
2.6 Uji Aktivitas Antibakteri.....	21
2.6.1 Metode Difusi.....	21
2.6.2 Metode Dilusi.....	24
2.6.3 Metode Bioautografi	25
BAB 3 METODE PENELITIAN	28
3.1 Jenis Penelitian.....	28

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian	28
3.2.1 Populasi Penelitian	28
3.2.2 Sampel Penelitian	28
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	28
3.3.1 Waktu Penelitian	28
3.3.2 Tempat Penelitian.....	28
3.4 Variabel Penelitian	29
3.4.1 Variabel Bebas	29
3.4.2 Variabel Terikat.....	29
3.5 Definisi Operasional Variabel.....	29
3.5.1 Isolat Aktinomisetes	29
3.5.2 Zona Hambat Minimum pada <i>Escherichia coli</i>	29
3.6 Metode Penelitian.....	30
3.7 Instrumen Penelitian.....	30
3.7.1 Alat Penelitian	30
3.7.2 Bahan Penelitian.....	30
3.8 Prosedur Penelitian.....	30
3.8.1 Sterilisasi Alat	30
3.8.2 Pembuatan Media.....	31
3.9 Persiapan Sampel	31
3.9.1 Pengambilan Sampel	31
3.9.2 Isolasi dan Direct Screening Aktinomisetes	33
3.9.3 Identifikasi Aktinomisetes	34
3.9.4 Peremajaan Isolat Sampel	35
3.9.5 Uji Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri Uji	35
3.9.6 Permbuatan Suspensi Bakteri Uji	35
3.9.7 Zona Hambat Terhadap Bakteri Uji	36
3.10 Teknik Pengumpulan Data	36
3.11 Teknik Analisa Data	36
3.12 Alur Penelitian.....	37
BAB 4 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	39
4.1 Penyajian Data	39
4.1.1 Screening Awal Pengambilan Sampel Tanah.....	39
4.1.2 Direct Screening Isolat Aktinomisetes	40
4.1.3 Pemurnian Isolat Aktinomisetes.....	45
4.1.4 Uji Aktivitas Antibakteri Aktinomisetes Terhadap Bakteri	46
4.2 Pembahasan	48
4.2.1 Isolasi Isolat Aktinomisetes.....	48
4.2.2 Uji Aktivitas Antibakteri Aktinomisetes terhadap Bakteri	50
<i>Escherichia coli</i>	
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	53
5.1 Kesimpulan	53
5.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Penampakan actinomycetes pada media SCA (<i>Starch Casein Agar</i>) a,c isolate pada cawan petri. B, d morfologi koloni	8
Gambar 2.2 Koloni aktinomisetes tumbuh pada agar	8
Gambar 2.3 Karakter kultur (A), morfologi koloni (B), miselium substrat dan aerial (C), dan tipe rantai spora (D)	10
Gambar 2.4 Hasil pewarnaan gram dari kultur bakteri	18
Gambar 4.1 Lokasi pengambilan sampel di hutan Mangrove Wonorejo Surabaya	39
Gambar 4.2 Hasil direct screening isolat yang diduga merupakan koloni aktinomisetes secara makroskopis	42
Gambar 4.3 Hasil pewarnaan gram, pewarnaan jamur dan uji katalase koloni aktinomisetes	44
Gambar 4.4 Hasil permurnian isolat aktinomisetes pada media SCA (<i>Starch Casein Agar</i>).	46
Gambar 4.5 Hasil pengukuran daya hambat berdasarkan terbentuknya zona bening aktinomisetes terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> ,	47

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Screening sampel tanah dengan alat soil meter	39
Tabel 4.2 Hasil direct screening isolate yang diduga aktinomisetes pada media SCA secara makroskopis.	40
Tabel 4.3 Hasil direct screening isolat aktinomisetes secara pewarnaan gram dan uji katalase.	43
Tabel 4.4 Hasil direct screening permurnian isolat aktinomisetes secara makroskopis dan mikroskopis.	45
Tabel 4.5 Hasil uji antagonis aktinomisetes terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> .	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Permohonan Survey Lokasi Penelitian	58
Lampiran 2. Surat Izin Pengambilan Sampel Tanah.....	59
Lampiran 3. Surat Izin Peminjaman Laboratorium.....	60
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian.....	61
Lampiran 5. Surat Hasil Pemeriksaan	70
Lampiran 6. Kartu Bimbingan Karya Tulis Ilmiah.....	71
Lampiran 7. Nota Persetujuan Dosen Pembimbing	72
Lampiran 8. Berita Acara Karya Tulis Ilmiah	73