

**IDENTIFIKASI AKTIVITAS ANTAGONIS ISOLAT AKTINOMISETES
DARI SEDIMEN TANAH TAMBAK DI KAWASAN EKOWISATA
HUTAN MANGROVE WONOREJO SURABAYA PADA**

Klebsiella pneumoniae

SKRIPSI



BELLA FIRDA RAMADHANI

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES SURABAYA
JURUSAN ANALIS KESEHATAN
PROGRAM STUDI DIPLOMA 4
2020**

**IDENTIFIKASI AKTIVITAS ANTAGONIS ISOLAT AKTINOMISETES
DARI SEDIMEN TANAH TAMBAK DI KAWASAN EKOWISATA
HUTAN MANGROVE WONOREJO SURABAYA PADA
*Klebsiella pneumoniae***

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu
syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Terapan Kesehatan**



**Oleh:
BELLA FIRDA RAMADHANI
NIM : P27834116021**

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES SURABAYA
JURUSAN ANALIS KESEHATAN
PROGRAM STUDI DIPLOMA 4
2020**

LEMBAR PERSETUJUAN

**IDENTIFIKASI AKTIVITAS ANTAGONIS ISOLAT AKTINOMISETES
DARI SEDIMEN TANAH TAMBAK DI KAWASAN EKOWISATA
HUTAN MANGROVE WONOREJO SURABAYA PADA
*Klebsiella pneumoniae***

Oleh:
BELLA FIRDA RAMADHANI
NIM. P27834116021

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui isi dan susunannya sehingga dapat
diajukan pada Ujian Sidang Skripsi yang diselenggarakan oleh Program
Studi Diploma IV Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan
Kemenkes Surabaya

Surabaya, Juni 2020

Pembimbing I

Pestariati, S.Pd, M.Kes
NIP. 19611006 198303 2 002

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 ISOLAT AKTINOMISETES
DARI SEDIMEN TANAH TAMBAK DI KAWASAN EKOWISATA
HUTAN MANGROVE WONOREJO SURABAYA PADA
*Klebsiella pneumoniae***

Oleh:
BELLA FIRDA RAMADHANI
NIM. P27834116021

Skripsi ini telah dipertahankan dihadapan
Tim Penguji Skripsi Jenjang Pendidikan Tinggi Diploma IV
Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya

Surabaya, Juni 2020

Tim Penguji

Tanda Tangan

Penguji I : Pestariati, S.Pd, M.Kes
NIP. 19611006 198303 2 002

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

Penguji III : Drs. Syamsul Arifin, ST, M.Kes
NIP. 19610613 198903 1 001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Analis Kesehatan
Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya


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

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto

“Expectation and dreams will remain expectations when you don't have courage to start and make them come true. Give your best effort dan pray, let Allah SWT do the rest”

Persembahan

Skripsi ini saya persembahkan dengan penuh cinta, kasih sayang dan terimakasih kepada kedua orang tua, diri sendiri, kakak, adik, keluarga besar, sahabat, dan semua pihak yang telah berjasa dan membantu selama menempuh pendidikan diploma 4 analis kesehatan.

ABSTRAK

Pengobatan pneumonia dengan antibiotik saat ini banyak mengalami resistensi, sehingga penemuan antibiotik baru yang efektif perlu dilakukan. Aktinomisetes merupakan golongan bakteri yang dapat menghasilkan antibiotik. Uji aktivitas antagonis antara isolat aktinomisetes yang diisolasi dari lokasi baru dengan bakteri uji *Klebsiella pneumoniae* dilakukan untuk mengetahui potensi aktinomisetes dalam menghasilkan senyawa yang berpotensi sebagai antibiotik. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui adanya aktivitas antagonis isolat aktinomisetes yang diisolasi dari sedimen tanah tambak di Kawasan Ekowisata Mangrove Wonorejo Surabaya pada *Klebsiella pneumoniae*. Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratoris. Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari-April 2020 di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya. Isolat aktinomisetes diisolasi dari sedimen tanah tambak yang diberi perlakuan *pre treatment* secara *dry heat* 90°C selama 15 menit kemudian ditanam pada media *Starch M Protein Agar* yang diberi Nystatin 25 µg/ml. Hasil isolasi selanjutnya diidentifikasi secara makroskopis, mikroskopis melalui pewarnaan gram dan uji katalase. Hasil identifikasi isolat aktinomisetes dari sedimen tanah tambak di Kawasan Ekowisata Mangrove Wonorejo Surabaya diperoleh sebanyak 3 isolat yang memiliki ciri makroskopis dan mikroskopis aktinomisetes. Ketiga isolat aktinomisetes yang berhasil diidentifikasi diuji aktivitas antagonisnya dengan menggunakan metode agar plug. Hasil uji aktivitas antagonis diketahui bahwa ketiga isolat memiliki aktivitas antagonis pada *Klebsiella pneumoniae* dengan membentuk zona hambat parsial di sekitar agar. Isolat P1 membentuk zona hambat parsial dengan diameter 14 mm (indeks hambat 0,26), isolat W2 diameter zona hambat 10 mm (indeks hambat 0,20) dan isolat X1 dengan diameter zona hambat 11 mm (indeks hambat 0,27).

Kata kunci : *aktinomisetes, aktivitas antagonis, sedimen tanah tambak di Kawasan Ekowisata Hutan Mangrove Wonorejo Surabaya, Klebsiella pneumoniae*

ABSTRACT

Pneumonia treatment with antibiotics currently experiencing resistances, so the discovery of new effective antibiotics are needed. Actinomycetes are group of bacteria which known could produce antibiotics. Antagonistic activity test between actinomycetes isolates which isolated from new locations and *Klebsiella pneumoniae* as test bacteria was carried out to determine the potential of actinomycetes in producing compounds that have potential as antibiotics. The purpose of this study was to determine the antagonistic activity of actinomycetes isolates isolated from pond soil sediments in the Wonorejo Mangrove Ecotourism Area of Surabaya in *Klebsiella pneumoniae*. This type of research is an experimental laboratory. This research was conducted in January-April 2020 at the Bacteriology Laboratory of Health Analyst Department, Health Polytechnic Ministry of Health Surabaya. The actinomycetes isolate was isolated from pond soil sediments which were treated with dry heat 90 °C for 15 minutes and then planted on Starch M Protein Agar media which were given Nystatin 25 µg / ml. The isolation results were further identified macroscopically, microscopically by gram staining and catalase test. The results of the identification of actinomycetes isolates from pond soil sediments in the Wonorejo Mangrove Ecotourism Area in Surabaya were obtained as many as 3 isolates which had macroscopic and microscopic actinomycetes characteristics. The three identified actinomycetes isolates were tested for their antagonistic activity using the agar plug method. The results of antagonistic activity test revealed that all three isolates had antagonistic activity on *Klebsiella pneumoniae* by forming a partial inhibitory zone around agar. Isolate P1 formed a partial inhibitory zone with a diameter of 14 mm (inhibitory index 0.26), isolate W2 inhibitory zone diameter 10 mm (inhibitory index 0.20) and isolate X1 with an inhibitory zone diameter 11 mm (inhibitory index 0.27).

Keywords : *actinomycetes, antagonistic activity, pond sediment in the Wonorejo Mangrove Forest Ecotourism Area Surabaya, Klebsiella pneumoniae*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala berkah dan karunia-Nya yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Identifikasi Aktivitas Antagonis Isolat Aktinomisetes dari Sedimen Tanah Tambak di Kawasan Ekowisata Hutan Mangrove Wonorejo Surabaya Pada *Klebsiella pneumoniae*”**.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan jenjang pendidikan Diploma IV Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi 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 di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi pembaca khususnya dan bagi masyarakat pada umumnya.

Surabaya, Juni 2020

Bella Firda Ramadhani

UCAPAN TERIMA KASIH

Penyusunan skripsi ini membutuhkan adanya bimbingan, kritik, saran, petunjuk dan dukungan dari semua pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam proses penyusunan skripsi ini, diantaranya :

1. Bapak Drs. Edy Haryanto, M.Kes selaku Ketua Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya.
2. Ibu Pestariati, S.Pd, M.Kes selaku Dosen Pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan arahan, bimbingan, serta saran selama penyusunan skripsi ini
3. Ibu Anita Dwi Anggraini, S. ST, M. Si selaku Dosen Pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan arahan, bimbingan, serta saran sehingga dapat menyempurnakan skripsi ini.
4. Bapak Drs. Syamsul Arifin, ST, M.Kes selaku Dosen Penguji yang telah bersedia menguji dan meluangkan waktu untuk memberikan koreksi serta saran pada skripsi ini sehingga menjadi lebih baik lagi.
5. Seluruh dosen, staf dan karyawan Poltekkes Kemenkes Surabaya Jurusan Analis Kesehatan, terimakasih atas ilmu, bantuan, serta pelajaran yang diberikan selama saya menempuh jenjang pendidikan Diploma IV.
6. Kedua orang tua terbaik, ayah Arif Wicaksono dan mama Siti Masrurroh, terimakasih atas segala doa, kasih sayang, ridho, motivasi serta segala bentuk dukungan yang diberikan sehingga penulis mampu bertahan dengan baik hingga titik ini dan menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

7. Diri saya sendiri. Terimakasih banyak karena telah berusaha dan memutuskan untuk tetap bertahan dan kuat hingga saat ini dan menyelesaikan skripsi ini.
8. Mas Arga Wicaksono Putra, adik Intan Nur Fadhilla Sari, mbak Yossie Anggraini, dan Almeera Alesha Wicaksono. Terimakasih atas segala doa, kasih sayang, motivasi dan hiburan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
9. Keluarga besar Mbah Tanji dan Mak Siamah serta keluarga besar Bapak Djamadi dan Ibu Karlin. Terimakasih atas segala bentuk support, semangat serta doa terbaik yang selalu tulus dipanjatkan untuk kelancaran studi, penyusunan skripsi dan kesuksesan penulis di masa depan.
10. Sahabat-sahabat terbaik “Sender Twitter – Fangirling” (Quintan, Prima, Cindy, Rani, Arina, Ihul), teman-teman yang selalu siap siaga “Temen Gercep”, teman-teman PKL “RSSA Jaya Luar Biasa – Sobat Ambyar”, teman praktikum terbaik “HOMPIMPA” dan teman-teman “SMA PEOX” (Tiyas, Nanas, Indri, Nathe, Deak). Terimakasih sudah memberikan banyak motivasi, semangat, doa, bantuan, hiburan dan rela mendengarkan keluh kesah penulis selama mengerjakan skripsi ini.
11. Teman-teman kelompok penelitian “Aktino Sukses” Mirzha dan Sahda, terimakasih atas segala bantuan, kerjasama dan semangatnya selama penelitian.
12. Seluruh teman-teman JAK’16 4ganalis, terutama komting terbaik - Arina Elhaq. Terimakasih atas semua bantuan, doa, semangat dan kerjasamanya
13. Kepada semua pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung pada penulisan skripsi ini.

DAFTAR ISI

COVER	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
UCAPAN TERIMA KASIH	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Batasan Masalah	5
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.4.1 Tujuan Umum	5
1.4.2 Tujuan Khusus	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
1.5.1 Manfaat Bagi Peneliti	6
1.5.2 Manfaat Bagi Masyarakat	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tinjauan tentang Aktinomisetes	7
2.1.1 Klasifikasi Aktinomisetes	7
2.1.2 Morfologi Aktinomisetes	8
2.1.3 Habitat Aktinomisetes	11
2.1.4 Isolasi dan Identifikasi Aktinomisetes	13
2.1.5 Metabolit Sekunder Aktinomisetes	16
2.2 Antibiotik	17
2.3 Metode Uji Aktivitas Antagonis	21

2.3.1 Metode Dilusi	21
2.3.2 Metode Difusi	22
2.4 Kawasan Ekowisata Hutan Mangrove Wonorejo Surabaya	23
2.5 Tinjauan tentang <i>Klebsiella pneumoniae</i>	25
2.5.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Klebsiella pneumoniae</i>	26
2.5.2 Isolasi dan Identifikasi <i>Klebsiella pneumoniae</i>	26
2.5.3 Faktor Virulensi <i>Klebsiella pneumoniae</i>	27
2.5.4 Resistensi <i>Klebsiella pneumoniae</i> terhadap Antibiotik	28
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	30
3.1 Kerangka Konsep	30
3.2 Keterangan Kerangka Konsep	31
3.3 Hipotesis Penelitian	32
BAB 4 METODE PENELITIAN	33
4.1 Jenis Penelitian	33
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	33
4.2.1 Tempat Penelitian	33
4.2.2 Waktu Penelitian	33
4.3 Populasi dan Sampel Penelitian	33
4.3.1 Populasi Penelitian	33
4.3.2 Sampel Penelitian	33
4.4 Variabel Penelitian	33
4.5 Definisi Operasional Variabel	34
4.5.1 Isolat Aktinomisetes	34
4.5.2 Aktivitas Antagonis pada <i>Klebsiella pneumoniae</i>	34
4.6 Teknik Pengumpulan Data	34
4.7 Instrumen Penelitian	35
4.7.1 Alat Penelitian	35
4.7.2 Bahan Penelitian	35
4.8 Prosedur Penelitian	35
4.8.1 Penentuan Lokasi dan Pengambilan Sampel	35
4.8.2 Isolasi Aktinomisetes	36
4.8.3 Identifikasi Isolat Aktinomisetes	37

4.8.4 Pemurnian Isolat Aktinomisetes	39
4.8.5 Penyiapan Suspensi <i>Klebsiella pneumoniae</i>	39
4.8.6 Uji Aktivitas Antagonis Isolat Aktinomisetes pada <i>Klebsiella pneumoniae</i>	39
4.9 Teknik Analisis Data	40
4.10 Alur Penelitian	42
BAB 5 HASIL DAN ANALISIS DATA	43
5.1 Penyajian Data Hasil Penelitian	43
5.1.1 Penentuan Lokasi dan Pengambilan Sampel	43
5.1.2 Direct Screening	44
5.1.3 Hasil Identifikasi Koloni Berdasarkan Pewarnaan Gram dan Uji Katalase	47
5.1.4 Pemurnian Isolat Aktinomisetes	48
5.1.5 Uji Aktivitas Antagonis Aktinomisetes Pada <i>Klebsiella pneumoniae</i>	49
5.2 Analisis Data Hasil Penelitian	51
BAB 6 PEMBAHASAN	53
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	57
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Koloni aktinomisetes dalam media agar.	9
Gambar 2. 2 Ilustrasi tipe rantai spora yang dihasilkan oleh aktinomisetes	10
Gambar 2. 3 Pertumbuhan isolat aktinomisetes pada media <i>Starch Casein Agar</i>	11
Gambar 2. 4 Penampakan isolat aktinomisetes pada <i>Starch Casein Agar plate</i> ..	14
Gambar 2.5Hasil foto <i>Scanning Electron Microscopy</i> beberapa isolat aktinomisetes.....	16
Gambar 2. 6 Kawasan Ekowisata Hutan Mangrove Wonorejo, Surabaya.	24
Gambar 2. 7 <i>Klebsiella pneumoniae</i> pada Pewarnaan Gram.....	26
Gambar 3. 1 Kerangka konsep	30
Gambar 4.1 Alur penelitian.....	42
Gambar 5. 1 Lokasi Pengambilan Sedimen Tanah dan Pengukuran Parameter Tanah Menggunakan Alat Soil Meter pada Lokasi A1, A2 dan A3	43
Gambar 5. 2 Hasil Isolasi Sampel Tanah A1, A2 dan A3 Replikasi 1 pada Tiap Pengenceran	46
Gambar 5. 3 Hasil Isolasi Sampel Tanah A1, A2 dan A3 Replikasi 2 pada Tiap Pengenceran	46
Gambar 5. 4 Hasil Pewarnaan Gram yang Menunjukkan Bakteri Gram Positif dengan Bentuk Batang Berfilamen (Aktinomisetes).....	47
Gambar 5. 5 Hasil Uji Katalase yang Menunjukkan Hasil Positif.....	47
Gambar 5. 6 Hasil Pemurnian Isolat Aktinomisetes	48
Gambar 5. 7 Hasil Pewarnaan Gram Isolat Aktinomisetes (P1, W2, X1)	49
Gambar 5. 8 Hasil Uji Katalase Isolat Aktinomisetes (P1, W2, X1)	49
Gambar 5. 9 Hasil Uji Aktivitas Antagonis Isolat Aktinomisetes (P1, W2, X1) pada <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603 secara triplo	49

DAFTAR TABEL

Tabel 5. 1 Hasil pengukuran parameter pH, suhu, intensitas cahaya dan kelembaban tanah tambak pada lokasi sampling.	43
Tabel 5.2 Hasil <i>direct sreening</i> secara makroskopis koloni yang tumbuh pada tiap pengenceran.....	44
Tabel 5.3 Hasil identifikasi berdasarkan pewarnaan gram dan uji katalase	47
Tabel 5.4 Hasil Pemurnian Isolat Aktinomisetes Berdasarkan <i>Direct Screening</i> , Pewarnaan Gram dan Uji Katalase	48
Tabel 5.5 Hasil Uji Aktivitas Antagonis Isolat Aktinomisetes.....	50
Tabel 5.6 Hasil pengukuran diameter zona hambat, zona koloni dan indeks hambat.....	50
Tabel 5.7 Rata-rata zona hambat dan indeks hambat isolat aktinomisetes	50
Tabel 5.8 Penentuan genus isolat berdasarkan ciri makroskopis, mikroskopis, dan hasil uji katalase sesuai dengan buku <i>Bergey's Manual of Systematic Bacteriology</i> (2012).....	52

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Izin Penelitian di Lingkungan Kampus.....	63
Lampiran 2 Surat Izin Pengambilan Sampel di Kawasan Ekowisata Hutan Mangrove Wonorejo Surabaya	64
Lampiran 3 Data Hasil Penelitian	66
Lampiran 4 Hasil Perhitungan	69
Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian.....	75
Lampiran 6 Kartu Bimbingan Proposal Skripsi	79
Lampiran 7 Berita Acara Revisi Proposal Skripsi	80
Lampiran 8 Kartu Bimbingan Skripsi	81
Lampiran 9 Berita Acara Revisi Skripsi	83
Lampiran 10 Nota Persetujuan Sidang Skripsi	84