

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PATOGEN PADA  
BUANGAN AKHIR LIMBAH CAIR RUMAH SAKIT UMUM  
DAERAH Dr. RM. DJOELHAM BINJAI**

**SKRIPSI**

**OLEH:  
SITI KHADIJAH NASUTION  
13.870.0037**



**FAKULTAS BIOLOGI  
UNIVERSITAS MEDAN AREA  
MEDAN  
2017**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PATOGEN PADA  
BUANGAN AKHIR LIMBAH CAIR RUMAH SAKIT UMUM  
DAERAH Dr. RM. DJOELHAM BINJAI**

**SKRIPSI**

**OLEH :**

**SITI KHADIJAH NASUTION  
NPM: 13.870.0037**


**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh  
Gelar Sarjana Sains Di Fakultas Biologi  
Universitas Medan Area**


**FAKULTAS BIOLOGI  
UNIVERSITAS MEDAN AREA  
MEDAN  
2017**



## LEMBAR PENGESAHAN

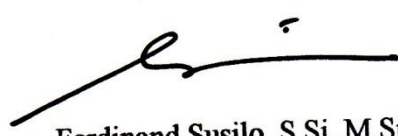
Judul Skripsi : Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Patogen Pada Buangan akhir  
Limbah Cair Rumah Sakit Umum Daerah Dr. RM. DJOELHAM  
Binjai  
Nama : Siti Khadijah Nasution  
NPM : 13 870 0037  
Fakultas : Biologi

Disetujui Oleh  
Komisi Pembimbing

  
Dra. Sartini, M.Sc  
Pembimbing I

  
Abdul Karim, S.Si, M.Si  
Pembimbing II

  
  
M. M. Sudibyo, M.Si  
Dekan

  
Ferdinand Susilo, S.Si, M.Si  
Ka. Prodi/WD 1

Tanggal Lulus : 13 Juni 2017

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi yang saya susun, sebagai syarat memperoleh gelar sarjana merupakan hasil karya tulis sendiri. Adapun bagian-bagian tertentu dalam skripsi ini yang saya kutip dari hasil karya orang lain telah di tuliskan sumbernya jelas sesuai dengan norma, kaidah dan etika ilmiah.

Saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya peroleh dan sanksi sanksi lainnya dengan peraturan yang berlaku, apabila dikemudian hari ditemukan plagiat dalam skripsi ini.

Medan, 01 Desember 2017



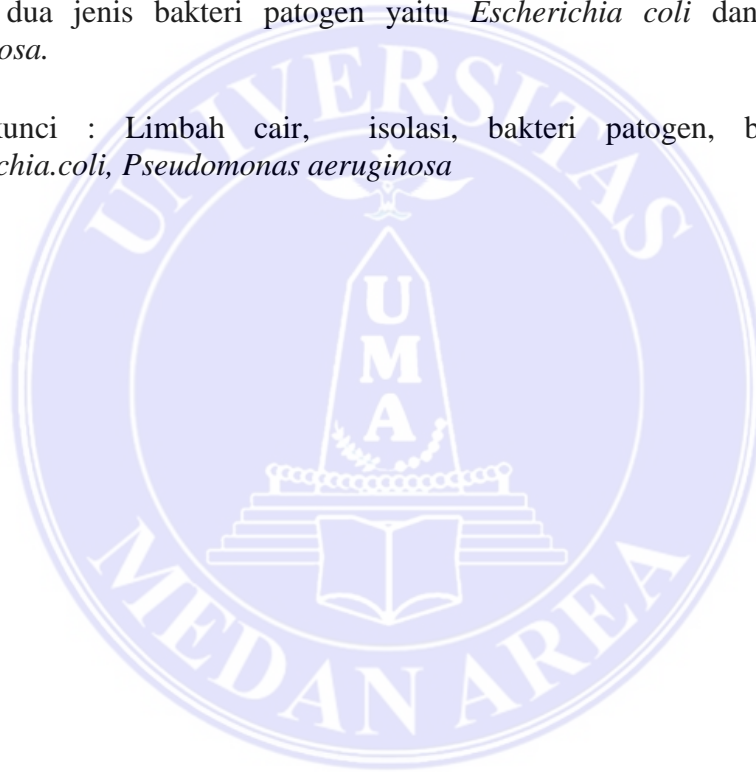
Siti Khadijah Nasution

13.870.0037

## ABSTRAK

Penelitian ini berjudul isolasi dan identifikasi bakteri pathogen pada buangan akhir limbah cair Rumah Sakit Umum Daerah Dr. RM. Djoeham Binjai.. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui jenis bakteri patogen yang terdapat pada buangan akhir limbah cair Rumah Sakit Umum Daerah Dr. R.M. Djoelham Binjai Metode penelitian bersifat deskriptif yaitu pemeriksaan berupa identifikasi bakteri patogen yang terdapat pada buangan akhir limbah cair Rumah Sakit Umum Daerah Dr. R.M. Djoelham Binjai. Tahapan penelitian berupa isolasi, karakterisasi sifat morfologi, fisiologis dan uji biokimia. Media media penanaman bakteri menggunakan media Brain Heart Infusion (BHI) agar, blood agar, cled agar, Mannitol Salt Agar (MSA), dan endo agar. Dari hasil penelitian ditemukan bakteri dua jenis bakteri patogen yaitu *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

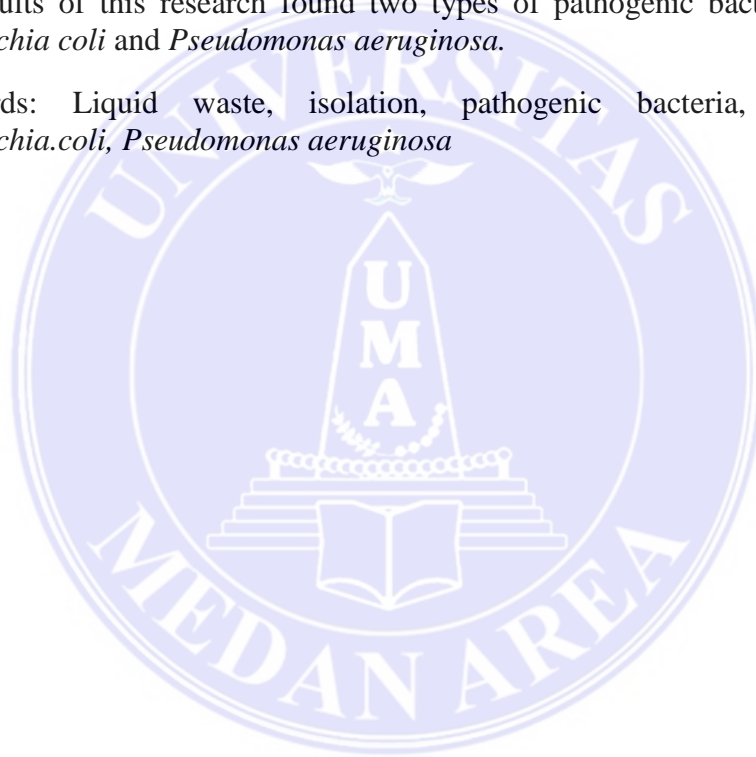
Kata kunci : Limbah cair, isolasi, bakteri patogen, buangan akhir, *Escherichia.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*



## ABSTRACT

The title of this research is Isolation and Identification of Pathogenic Bacteria in Final Disposal of Liquid Waste “ Rumah Sakit Umum Daerah Dr. R.M. Djoeham Binjai. The purpose of this research is to investigate the type of pathogen bacteria found in the final waste disposal of “ Rumah Sakit Umum Daerah Dr. R.M. Djoeham Binjai. The research method is descriptive in the form of identification of pathogenic bacteria found in the final effluent of liquid waste. The step of this research are isolation, characterization of morphological, physiological and biochemical test. Bacterial culture media media using Brain Heart Infusion (BHI) agar , cled agar, Mannitol Salt Agar (MSA) and endo agar. The results of this research found two types of pathogenic bacteria which are *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: Liquid waste, isolation, pathogenic bacteria, final waste, *Escherichia.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*





## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis, Siti Khadijah Nasution, dilahirkan di Medan pada tanggal 11 Juni 1979 dan merupakan anak ke enam dari tujuh bersaudara. Anak dari Ayahanda H. Umar Nasution dan Ibunda Almh. Hj. Rosdiana Lubis.

Pendidikan formal yang ditempuh :

1. Memasuki Sekolah Dasar (SD) di SD Negeri 060849 Medan dan lulus pada tahun 1992.
2. Memasuki Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Negeri 14 Medan dan lulus pada tahun 1995.
3. Memasuki Sekolah Menengah Analis Kesehatan (SMAK) di Departemen Kesehatan Republik Indonesia dan lulus pada tahun 1998.
4. Memasuki Akademi Analis Kesehatan (AAK) di Politeknik Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia dan lulus pada tahun 2002.
5. Memasuki Perguruan Tinggi di Fakultas Biologi dengan Konsentrasi Biologi Kesehatan pada Universitas Medan Area, Medan, tahun 2013 sampai tahun 2017.

Mulai tahun 2005 sampai saat ini aktif bekerja sebagai Pegawai Negeri Sipil di Instalasi Laboratorium Patologi Klinik, Rumah Sakit Umum Dr. R.M Djoelham Binjai. Penulis bertempat tinggal di Jalan Klambir Lima Perumahan Graha Indah Kelapa Gading Blok E No 2, Medan.

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis sampaikan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karuniaNya, serta salawat beriring salam penulis sampaikan kepada Nabi Muhammad SAW, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul, Isolasi dan Identifikasi Bakteri Patogen pada Buangan Akhir Limbah Cair Rumah Sakit Umum Daerah Dr. RM. Djoelham Binjai.

Skripsi ini juga tidak akan terselesaikan tanpa doa, dukungan, dan juga bantuan dari banyak pihak, maka ucapan terima kasih yang sebesar besarnya penulis ucapkan kepada orangtua, suami, anak tersayang, seluruh keluarga dan teman sejawat yang terlibat di dalamnya. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada Ibu Dra. Sartini, M.Sc sebagai Dosen Pembimbing 1 dan Bapak Abdul Karim S.Si, M.Si sebagai Dosen Pembimbing II, Ibu Ida Fauziah S.Si, M.Si dan juga dosen penguji Bapak Ir. E. Harso Kardhinata, M.Sc yang telah memberikan waktu, bimbingan, perhatian, saran, kritik dalam penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, hal ini di sebabkan karena keterbatasan kemampuan dan ilmu pengetahuan yang penulis miliki, oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diharapkan dari berbagai pihak. Semoga skripsi ini bermanfaat untuk semua pihak dan semoga Allah SWT memberikan balasan atas apa yang telah diberikan. Amin ya Rabbal Alamin

Penulis

(Siti Khadijah Nasution)



## DAFTAR ISI

|  | Halaman |
|--|---------|
| HALAMAN JUDUL.....                                     | i       |
| LEMBAR PENGESAHAN .....                                | ii      |
| LEMBAR PERNYATAAN .....                                | iii     |
| ABSTRACT .....   | iv      |
| ABSTRAK .....  | iv      |
| RIWAYAT HIDUP .....                                    | v       |
| KATA PENGANTAR .....                                   | vi      |
| DAFTAR TABEL .....                                     | viii    |
| DAFTAR GAMBAR .....                                    | ix      |
| <br>   |         |
| BAB I PENDAHULUAN .....                                | 1       |
| 1.1 Latar Belakang .....                               | 1       |
| 1.2 Perumusan Masalah .....                            | 3       |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....                            | 3       |
| 1.4 Manfaat Penelitian .....                           | 3       |
| <br>   |         |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....                          | 4       |
| 2.1 Pengertian dan Karakteristik Limbah.....           | 4       |
| 1. Limbah Padat .....                                  | 4       |
| 2. Limbah Gas .....                                    | 4       |
| 3. Limbah Cair .....                                   | 5       |
| 2.2 Limbah Cair Rumah Sakit .....                      | 6       |
| 2.3 Bakteri Patogen pada Limbah Cair Rumah Sakit ..... | 8       |
| <br>   |         |
| BAB III METODE PENELITIAN .....                        | 12      |
| 3.1 Waktu dan Tempat .....                             | 12      |
| 3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....                    | 12      |
| 3.3 Metode Penelitian.....                             | 12      |
| 3.4 Sumber Isolat.....                                 | 13      |
| 3.5 Prosedur Penelitian.....                           | 13      |
| 3.6 Data Penelitian .....                              | 16      |
| <br>   |         |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....                      | 17      |
| 4.1 Karakteristik Morfologi Bakteri .....              | 17      |
| 4.2 Identifikasi Bakteri .....                         | 22      |
| <br>   |         |
| BAB V SIMPULAN DAN SARAN .....                         | 27      |
| 5.1 Simpulan .....                                     | 27      |
| 5.2 Saran .....  | 27      |
| <br>   |         |
| DAFTAR PUSTAKA.....                                    | 28      |
| <br>   |         |
| LAMPIRAN .....   | 31      |

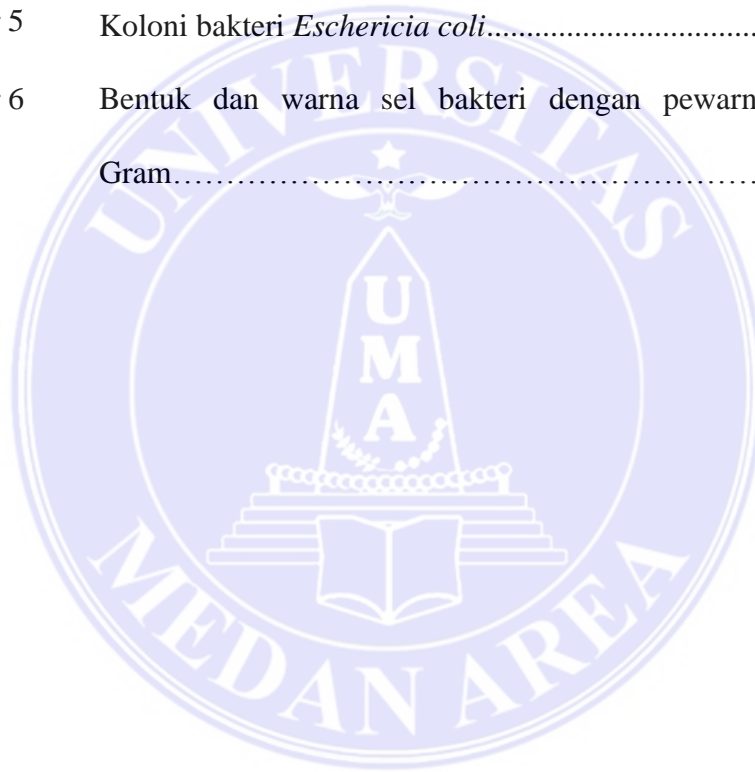
## DAFTAR TABEL

|         | Halaman   |
|---------|---|
| Tabel 1 | Karakteristik warna koloni bakteri dari air limbah<br>buangan akhir Rumah Sakit Dr. RM. DJOELHAM<br>Binjai ..... 17 |
| Tabel 2 | Hasil Identifikasi dengan Pewarnaan Gram ..... 22   |
| Tabel 3 | Hasil Identifikasi biologi bakteri ..... 24   |



## DAFTAR GAMBAR

|          | Halaman   |
|----------|---|
| Gambar 1 | Koloni bakteri <i>Staphylococcus saprophyticus</i> ..... 18                   |
| Gambar 2 | Koloni bakteri <i>Streptococcus <math>\delta</math>-haemolyticus</i> ..... 19 |
| Gambar 3 | Koloni bakteri <i>Eschericia coli</i> ..... 19                                |
| Gambar 4 | Koloni bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ..... 20                         |
| Gambar 5 | Koloni bakteri <i>Eschericia coli</i> ..... 21                                |
| Gambar 6 | Bentuk dan warna sel bakteri dengan pewarnaan Gram..... 23                    |



# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Peningkatan pembangunan di bidang industri, kesehatan dan pendidikan tentu saja memberikan efek positif bagi kehidupan kita. Tetapi perlu diingat disamping hal positif yang kita peroleh, pembangunan tentu saja akan menimbulkan efek negatif seperti peningkatan jumlah dan jenis limbah, salah satunya limbah cair. Limbah cair umumnya terbentuk akibat adanya pemakaian air dalam proses produksi baik di bidang industri, kesehatan dan pendidikan. Zat-zat yang terkandung di dalam limbah cair tergantung pada pemakaian untuk masing-masing keperluan, sehingga dampak yang ditimbulkan juga sangat bervariasi bergantung pada zat-zat yang terkandung di dalamnya (Mulia, 2005).

Rumah sakit sebagai salah satu upaya peningkatan kesehatan tidak hanya terdiri dari balai pengobatan dan tempat praktik dokter saja, tetapi juga ditunjang oleh unit-unit lainnya, seperti ruang operasi, laboratorium, farmasi, administrasi, dapur, laundry, pengolahan sampah dan limbah, serta penyelenggaraan pendidikan dan pelatihan (Djaja & Maniksulistya, 2006). Rumah sakit menghasilkan limbah dalam bentuk padat, cair ataupun gas yang cukup potensial untuk mencemari lingkungan. Sebagaimana diketahui limbah rumah sakit dapat digolongkan menjadi dua yaitu limbah infeksius dan limbah non infeksius. Limbah infeksius yaitu limbah yang termasuk dalam kategori limbah bahan beracun berbahaya (B3) dan limbah non infeksius yaitu limbah yang termasuk ke dalam kategori limbah rumah tangga atau limbah domestik. Limbah infeksius

merupakan limbah yang dapat membahayakan dan menimbulkan penyakit (Zainab, 2009).

Menurut Anita & Indria (2012) limbah cair rumah sakit yang tidak dikelola dengan baik, mengandung banyak bakteri yang dapat dijadikan salah satu indikator adanya pengelolaan limbah yang tidak baik serta kondisi lingkungan yang tidak baik. Beberapa bakteri yang terdapat pada limbah cair rumah sakit adalah *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebseila pneumonia* dan *Escherichia coli*. Diantara jenis-jenis bakteri tersebut, *E.coli* merupakan jenis yang paling banyak ditemui.

Prantowati (2009) menyebutkan bahwa pada limbah cair di salah satu Rumah Sakit Umum di Yogyakarta diperoleh 24 jenis isolat bakteri. Genus bakteri yang paling baik pertumbuhannya adalah *Leminorella*, *Enterobacter* dan *Chrombacterium*. Limbah cair yang mengandung bakteri patogen dapat berfungsi sebagai media penyebaran penyakit bagi petugas rumah sakit, penderita maupun masyarakat. Gangguan tersebut dapat berupa pencemaran udara, pencemaran air, tanah, serta pencemaran makanan dan minuman (Alamsyah, 2007).

RSUD Dr. RM. Djoelham Binjai merupakan rumah sakit umum yang memiliki pasien dengan klasifikasi penyakit yang berbeda-beda. Berdasarkan uraian di atas, maka sangat penting dilakukan penelitian mengenai Isolasi dan Identifikasi Bakteri Patogen pada Buangan Akhir Limbah Cair Rumah Sakit Umum Daerah Dr. RM. Djoelham Binjai. Penelitian ini diharapkan memberikan sumbangan pengetahuan terutama tentang kualitas limbah cair untuk mengetahui

kualitas parameter biologis limbah cair di rumah sakit tersebut sehingga dapat digunakan pihak terkait untuk memperbaiki mutu limbah cair.

Penelitian eksplorasi bakteri patogen dari limbah cair rumah sakit telah banyak dilakukan. Tetapi khusus untuk RSUD Dr. RM. Djoelham Binjai informasi yang diperoleh masih terbatas. Belum diketahui adanya jenis bakteri patogen yang terdapat pada buangan akhir limbah cair di Rumah Sakit Umum Daerah Dr. RM. Djoelham Binjai maka perlu dilakukan penelitian mengenai isolasi dan identifikasi bakteri patogen pada buangan akhir limbah cair Rumah Sakit Umum Daerah Dr. RM. Djoelham Binjai.

### **1.2 Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah di uraikan di atas maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah adakah ditemukannya jenis bakteri patogen pada limbah cair buangan akhir di Rumah Sakit Umum Daerah Dr. RM. Djoelham Binjai.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis bakteri patogen yang terdapat pada buangan akhir limbah cair Rumah Sakit Umum Daerah Dr. RM. Djoelham Binjai.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat berupa data dan informasi kepada pihak yang membutuhkan dan pihak terkait mengenai jenis bakteri patogen yang terdapat pada buangan akhir limbah cair Rumah Sakit Umum Daerah Dr. RM. Djoelham Binjai.



## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Pengertian dan Karakteristik Limbah**

Limbah merupakan buangan yang dihasilkan dari suatu proses produksi baik industri maupun domestik (rumah tangga). Limbah lebih dikenal sebagai sampah atau zat sisa yang kehadirannya pada suatu saat dan tempat tertentu tidak dikehendaki lingkungan karena tidak memiliki nilai ekonomis. Limbah dapat berbentuk cair, padat dan gas (Putra, 2011).

##### **1. Limbah Padat**

Limbah padat merupakan hasil buangan yang berupa padatan, lumpur atau bubuk yang berasal dari suatu proses pengolahan industri maupun domestik. Limbah padat hasil industri meliputi limbah pabrik gula, pulp, kertas, rayon, polywood, limbah nuklir, pengawetan buah, ikan, atau daging.

Menurut Pranowo (2000), limbah padat dapat dikelompokkan menjadi 7 yaitu : Limbah padat yang mudah terbakar, limbah padat yang sukar terbakar, limbah padat yang mudah membusuk, limbah yang dapat di daur ulang, limbah radioaktif, bongkaran bangunan dan lumpur.

##### **2. Limbah Gas**

Limbah gas adalah limbah atau zat buangan yang berwujud gas. Limbah gas dapat dilihat dalam bentuk asap. Limbah gas selalu bergerak, sehingga penyebarannya sangat luas. Contoh limbah gas yang sering dijumpai adalah asap dari hasil pembakaran limbah di *incinerator*. Limbah rumah sakit merupakan campuran limbah yang memiliki sifat heterogen. Seluruh jenis limbah rumah sakit

dapat mengandung limbah berpotensi infeksi. Limbah residu *incinerator* melalui proses insenerasi atau pembakaran limbah dengan suhu tinggi, dapat dikategorikan sebagai limbah B3 bila insenerasi sebuah rumah sakit tidak sesuai dengan kriteria atau tidak dioperasikan dengan sesuai (Sumisih, 2010).

### **3. Limbah Cair**

Limbah cair adalah limbah yang berwujud cair. Limbah cair memiliki sifat terlarut dalam air, selalu berpindah mengikuti arus air, dan tidak pernah diam. Limbah cair yang umum ditemukan dapat bersumber dari kegiatan rumah tangga, kegiatan industri, kegiatan rumah sakit dan aktivitas yang bergerak di bidang kesehatan, kegiatan pertanian, kegiatan pertambangan dan kegiatan transportasi.

Beberapa contoh limbah cair yaitu air bekas mencuci pakaian, air bekas pencelupan warna pakaian, air limbah dapur, limbah kamar mandi, dan toilet.

Limbah domestik biasanya lebih banyak mengandung air. Untuk limbah cair mengandung 99,9% air dan 0,1% zat padat. Zat padat terdiri dari protein, karbohidrat, lemak dan zat anorganik seperti butiran pasir, garam mineral dan logam (Sugiharto, 1987).

Limbah cair yang dibuang ke lingkungan memerlukan proses pengolahan untuk memenuhi baku mutu limbah cair yang diijinkan oleh pemerintah agar air limbah tersebut tidak mencemari lingkungan disekitarnya (Anggraeini, 2014). Pengolahan limbah cair diperlukan karena limbah cair mengandung zat-zat pencemar (termasuk mikroorganisme berbahaya) dengan konsentrasi tertentu yang bila dimasukkan ke bahan air dapat mengubah kualitas airnya. Kualitas air merupakan pencerminan kandungan konsentrasi makhluk hidup, energi, zat-zat, atau komponen lain yang ada dalam air. Limbah cair mempunyai efek negatif bagi

lingkungan karena mengandung zat-zat beracun yang mengganggu keseimbangan lingkungan dan kehidupan makhluk hidup yang terdapat di dalamnya.

Salah satu jenis limbah cair yang membutuhkan pengolahan sebelum dibuang ke lingkungan adalah limbah cair rumah sakit. Limbah cair rumah sakit diduga mengandung banyak zat pencemar dan bakteri patogen. Bakteri patogen adalah bakteri yang merugikan. Ada 2 jenis patogen :

1. Bakteri parasit: bakteri yang memperoleh makanan dari makhluk hidup lain.  
(Contoh : *Vibro cholera* penyebab penyakit kolera)
2. Bakteri autotrof: bakteri yang menyusun makanannya dari bahan organik.  
Bakteri jenis ini akan menghasilkan senyawa-senyawa yang dapat menurunkan pH air.

## **2.2 Limbah Cair Rumah Sakit**

Rumah sakit merupakan instansi pelayanan di bidang kesehatan yang meliputi upaya pencegahan, pengobatan, dan rehabilitasi. Sebagai sarana kesehatan masyarakat, rumah sakit menghasilkan buangan berupa limbah yang mengandung mikroorganisme, bahan kimia beracun dan radioaktifitas (Prastiyo, 2012). Limbah tersebut kemungkinan besar mengandung mikroorganisme patogen atau bahan kimia beracun berbahaya yang menyebabkan penyakit infeksi dan dapat tersebar ke lingkungan rumah sakit yang disebabkan oleh teknik pelayanan kesehatan yang kurang memadai, kesalahan penanganan bahan-bahan terkontaminasi dan peralatan, serta penyediaan dan pemeliharaan sarana sanitasi yang masih buruk (Alamsyah, 2007).

Limbah rumah sakit biasanya banyak mengandung virus, bakteri maupun zat-zat lain yang berbahaya. Mikroorganisme seperti virus dan bakteri yang

terdapat pada limbah, berasal dari laboratorium *virologi* dan *mikrobiologi* dan sampai saat ini belum ada penanganan yang tepat agar mikroorganisme tersebut mudah untuk dideteksi. Limbah yang dihasilkan rumah sakit dapat berfungsi sebagai media penyebaran penyakit bagi para petugas, penderita maupun masyarakat yang ada di rumah sakit (Pratiwi, 2013). Limbah rumah sakit juga dapat menjadi sumber pencemaran seperti pencemaran udara, pencemaran air, tanah, serta pencemaran makanan dan minuman (Alamsyah, 2007).

Limbah cair yang dihasilkan dari sebuah rumah sakit umumnya banyak mengandung bakteri, virus, senyawa kimia, dan obat-obatan yang dapat membahayakan bagi kesehatan masyarakat sekitar rumah sakit. Limbah yang berasal dari laboratorium paling perlu diwaspadai. Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam proses uji laboratorium tidak bisa diurai hanya dengan aerasi atau *activated sludge*. Bahan-bahan ini mengandung logam berat dan infeksius, sehingga harus disterilisasi atau dinormalkan sebelum dibuang ke lingkungan (Alamsyah, 2007). Bakteri patogen yang terkandung di dalam limbah infeksius rumah sakit dapat memasuki tubuh manusia melalui beberapa jalur ( Pruss, 2005 ) yaitu : (1) melalui luka akibat tusukan, lecet, atau luka yang terbuka dikulit. Luka yang terjadi akibat goresan benda tajam dapat menjadi sumber infeksi jika benda tajam tersebut sudah dikontaminasi oleh patogen, (2) melalui membran mukosa, (3) melalui pernafasan. Infeksi saluran pernafasan dapat masuk melalui sekret yang terhirup dan (4) melalui saluran pencernaan. Infeksi yang masuk melalui saluran pencernaan dapat terjadi dengan penularan melalui tinja dan muntahan.

Penelitian Setiawan & Hartini (2012) menyebutkan bahwa di RSUD Kelet yang terletak di Jawa Tengah Kabupaten Jepara, memiliki unit pengolahan limbah

cair yang membuang limbah cair yang dihasilkan dari tiap unit pelayanan ke dalam *septic tank* yang dibuat di tiap unit pelayanan. Kondisi ini menyebabkan kandungan bakteri *coli* air sumur gali tinggi. Berdasarkan hal tersebut maka untuk menghilangkan dampak negatif dari limbah cair yang dihasilkan perlu pengolahan limbah yang sempurna sebelum dibuang ke badan air.

Mengingat bahaya dari limbah cair rumah sakit, maka sebelum dibuang ke lingkungan seperti parit, sungai atau ke saluran pembuangan akhir, maka limbah tersebut harus diolah terlebih dahulu.

Dalam proses pengolahan limbah cair rumah sakit digunakan sistem aerobik maupun anaerobik yang merupakan proses bioremediasi dengan menggunakan mikroba yang ada dalam lumpur aktif untuk membantu memperbaiki mutu limbah tersebut (Waluyo, 2005). Pengolahan limbah cair secara biologis secara garis besar dapat dibagi menjadi tiga yakni proses biologis dengan biakan tersuspensi (*suspended culture*), proses biologis dengan biakan melekat (*attached culture*) dan proses pengolahan dengan sistem lagoon atau kolam (Kemen Kes RI, 2011).

### **2.3 Bakteri Patogen pada Limbah Cair Rumah Sakit**

Limbah cair rumah sakit mengandung bermacam-macam mikroorganisme bergantung pada jenis rumah sakit. Limbah cair rumah sakit juga dapat mengandung bahan organik dan anorganik yang umumnya diukur dengan parameter BOD, COD, TSS, dan lain-lain. Penelitian Yuanita (1999) yang mengidentifikasi bakteri patogen dari limbah cair RSUD Dr. Moewardi Surakarta, diketahui bahwa air limbah di rumah sakit tersebut mengandung 3 jenis bakteri patogen yaitu *Bacillus cereus*, *Eschericia coli*, dan *Klebsiella pneumoniae*.

Pengolahan air limbah Rumah Sakit tersebut mampu menurunkan angka kuman *Bacillus cereus* sebesar 44,89% dan angka kuman *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* sebesar 100%.

Bakteri patogen yang terdapat di dalam limbah cair dapat dikelompokkan dalam beberapa grup (Said & Marsidi, 2005), diantaranya:

1. Kelompok bakteri gram negatif fakultatif anaerobik, misalnya: *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Vibrio*, *Enterobacter*, *Eschericia*, *Klebsiella* dan *Shigella*.
2. Kelompok bakteri gram negative aerobic, misalnya: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* dan *Acinetobacter*.
3. Kelompok bakteri gram positif yang membentuk spora yaitu *Bacillus* spp.
4. Kelompok bakteri gram positif yang tidak membentuk spora, misalnya: *Arthrobacter*, *Corynebacterium* dan *Rhodococcus*.

### **2.2.1 *Escherichia coli***

*Escherichia coli* termasuk ke dalam bakteri *coliform* yang merupakan salah satu indikator dalam menentukan kualitas air limbah. Bakteri *coliform* dapat dibedakan menjadi 2 grup yaitu *coliform fecal* misalnya *Escherichia coli* dan *coliform nonfecal* misalnya *Enterobacter aerogenes*. Adanya bakteri *coliform* dapat menyebabkan gangguan kesehatan seperti diare, demam tifoid, kolera, disentri amoeba dan penyakit lainnya yang masuk dalam kategori *water borne disease* (Waluyo, 2005). *E.coli* berasal dari kotoran manusia dan hewan, ketika hujan bakteri ini dapat terbawa air hujan ke sungai, danau atau air tanah (Feng, 2002).

Penelitian Rahmawati & Azizah (2005) menyebutkan bahwa, air limbah RSUD Nganjuk mengandung bakteri *coliform* yaitu rata-rata sebesar 10.485 mg/l,



sedangkan sesudah pengolahan rata-rata 9.943 mg/l, berdasarkan hasil perhitungan tersebut terjadi penurunan sebesar 5,17% kandungan bakteri *coliform* pada limbah cair tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa sangat mungkin limbah cair rumah sakit dikontaminasi oleh bakteri *coli*. Baku mutu limbah cair rumah sakit untuk parameter kuman golongan *coli* adalah maksimum 10.000 koloni/ 100 ml air limbah (Alamsyah, 2007).

### **2.2.2 *Salmonella typhi***

*Salmonella typhi* (*S. typhi*) merupakan kuman patogen penyebab demam tifoid, yaitu suatu penyakit infeksi sistemik dengan gambaran demam yang berlangsung lama, adanya bakteremia disertai inflamasi yang dapat merusak usus dan organ hati. Demam tifoid merupakan penyakit menular yang tersebar di seluruh dunia, dan sampai sekarang masih menjadi masalah kesehatan terbesar dinegara berkembang dan tropis seperti Asia Tenggara, Afrika dan Amerika Latin (Cita, 2011). *S. typhi* merupakan kuman batang gram negatif yang tidak memiliki spora, bergerak dengan flagel peritrik, bersifat intraseluler fakultatif dan anerob fakultatif.

### **2.2.3 *Shigella dysenteriae***

*Shigella dysenteriae* merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk basil dan lurus, *non-motile*, facultatif anaerob, tidak berspora, tidak berkapsul, suhu optimum pertumbuhan yaitu 37°C. Ukuran *Shigella dysenteriae* sekitar 2-3µm x 0,5-0,7 µm dan susunannya tidak teratur. Koloni *Shigella dysenteriae* berbentuk konveks, bulat, transparan dengan pinggir utuh dan berukuran mencapai 2 mm.

*S. dysenteriae* berpindah dari penderita melalui *oral* seperti melalui makanan, tangan, air yang terkontaminasi feses dan lalat. *S. Dysenteriae* merupakan bakteri intraseluler fakultatif. *S. dysenteriae* menyerang manusia dengan menginvasi dan memfagositosis sel epitel mukosa *S. dysenteriae* kemudian keluar dari vakuola fagositik dan bermultiplikasi serta menyebar di dalam sitoplasma yang pada akhirnya menyebar ke sel lain di dekatnya (Jawetz *et al.*, 2001).

#### **2.2.4 *Vibrio cholera***

*Vibrio cholera* adalah kelompok bakteri gram negatif yang berbentuk basil melengkung dan berpindah ke tubuh inang melalui air. *V.cholera* mampu melepaskan eksotoksin yang menyebabkan diare, muntah dan dehidrasi cairan sampai menyebabkan kematian dalam waktu singkat. Bakteri ini sering ditemukan sebagai endemik di wilayah Asia. Bakteri ini terdapat di air limbah dengan konsentrasi berkisar antara  $10-10^4$  bakteri per 100 ml air limbah. *V. Cholera* secara alami terdapat di alam dan melekat pada zooplankton dan fitoplankton ( Said & Marsidi, 2005).

## BAB 3

### BAHAN DAN METODE

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2016 di Laboratorium Mikrobiologi Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Sumatera Utara.

#### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan Petri, tabung reaksi, Erlenmeyer, jarum ose, lampu bunsen, kapas, pipet mikroliter, *object glass*, *cover glass*, mikroskop dan inkubator.

##### 3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air limbah buangan akhir Rumah Sakit Umum Daerah Dr. RM. Djoelham Binjai. Media yang digunakan adalah media *Brain Heart Infusion* (BHI), *blood agar*, *endo agar*, *cleid agar*, akuades, alkohol, desinfektan, zat warna (kristal violet dan safranin), lugol, media-media uji biokimia yaitu: *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Simmon Citrate Agar* (SCA), *Sulfide Indol Motility* (SIM) dan *Mannitol Salt Agar* (MSA).

#### 3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif yaitu melakukan pemeriksaan berupa identifikasi bakteri patogen pada buangan akhir limbah cair Rumah Sakit Umum Daerah Dr. RM. Djoelham Binjai.

### 3.4 Sumber Isolat

Sampel diperoleh dari buangan akhir limbah cair Rumah Sakit Umum Daerah Dr. RM. Djoelham Binjai. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara menampung bagian tengah buangan air limbah dengan menggunakan botol steril. Setelah selesai, tutup kembali mulut botol, sampel segera dibawa ke laboratorium untuk segera diisolasi.

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Isolasi Bakteri Patogen

Sampel berupa limbah cair diambil sebanyak 10 ml dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer steril, selanjutnya dilakukan pengenceran dengan menambahkan 90 ml akuades steril dan dihomogenkan (pengenceran  $10^1$ ). Kemudian dilakukan pengenceran bertingkat hingga seri pengenceran  $10^3$ . Selanjutnya dari pengenceran  $10^3$  diinokulasikan sebanyak 1 ml suspensi pada media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan dihomogenkan. Inkubasi dilakukan pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat kekeruhan yang terbentuk pada media.

Diambil 1 ose media *Brain Heart Infusion* (BHI) dari tabung yang menunjukkan uji positif berupa kekeruhan, dan ditanam di media *enrichment* (*blood agar*, *pled agar* dan *endo agar*). Cawan uji selanjutnya diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam. Koloni bakteri yang muncul diamati karakteristiknya berupa warna dan bentuk koloni. Kemudian setiap koloni yang muncul didokumentasikan dan disimpan dalam bentuk file.

### **3.5.2 Karakteristik Morfologi dan Fisiologi Bakteri Patogen**

Isolat bakteri yang diperoleh kemudian dikarakterisasi sifat morfologinya secara visual (makroskopis) mencakup warna koloni dan bentuk koloni. Identifikasi morfologi bakteri patogen dilakukan dengan mencocokkan koloni bakteri yang muncul dengan ciri-ciri pada buku identifikasi.

Sementara karakterisasi fisiologis dengan melakukan pewarnaan bertingkat (pewarnaan Gram) untuk membedakan kelompok bakteri gram positif dan bakteri gram negatif.

### **3.5.3 Pewarnaan Gram**

Pewarnaan Gram terdiri dari 3 tahap yaitu:

a. Pembuatan preparat ulas

Dari kultur biakan diambil 1-2 lup ose steril ke permukaan slide. Diberi 1-2 tetes aquadest. Dengan ose disebarakan secara merata membentuk bulatan kecil.. Slide tersebut difiksasi (dilewatkan diatas api secara berulang-ulang hingga terlihat mengering).

b. Pemberian zat warna

Diberi zat warna kristal violet dan dibiarkan selama 1 menit, bilas dengan aquades, keringanginkan. Teteskan larutan lugol 1-2 tetes selama 30 detik. Dibilas dengan aseton alkohol selama 15 detik, lalu dibilas dengan aquades. Teteskan larutan safranin (zat warna tanding) biarkan selama 1 menit, bilas dengan aquades dan dikeringkan. Diamati dibawah mikroskop.

### c. Pengamatan

Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop. Bentuk koloni dan indikasi bakteri gram positif atau negatif dicatat untuk digunakan sebagai data penelitian.

#### 3.5.4 Uji Biokimia

Bakteri hasil pewarnaan gram yang menunjukkan gram positif dilanjutkan dengan pengujian biokimia yaitu uji katalase, uji koagulase dan penanaman di media *Mannitol Salt Agar* (MSA). Uji katalase dilakukan dengan cara mencampurkan 1 koloni bakteri dengan menggunakan ose pada media yang berisi larutan perhidrol ( $H_2O_2$ ). Terbentuknya gelembung (pelepasan  $O_2$ ) menandakan uji positif.

Uji koagulase dilakukan dengan cara tube test. Pada tube test yang di cari ialah adanya koagulase bebas dan cukup dipergunakan plasma kelinci. Ambil 1 ose koloni bakteri, tanamkan pada media. Hasilnya positif kuat jika tabung tes dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung.

Penanaman pada media MSA dilakukan dengan mengambil 1 ose koloni bakteri kemudian menanamnya pada media. Penanaman dilakukan dengan metode tanam sinambung (zigzag). Inkubasi dilakukan pada suhu  $37^{\circ}C$  selama 24 jam. Uji positif ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan koloni berwarna kuning pada media yang mengindikasikan koloni tersebut adalah genus *Staphylococcus*.

Bakteri hasil pewarnaan gram yang menunjukkan gram negatif dilanjutkan dengan pengujian biokimia yaitu uji fermentasi gula, uji motilitas, dan fermentasi sitrat. Uji fermentasi gula menggunakan media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), uji fermentasi sitrat menggunakan media *Simmon Citrate Agar* (SCA) dan uji motilitas menggunakan media *Sulfide Indol Motility* (SIM). Penanaman dilakukan

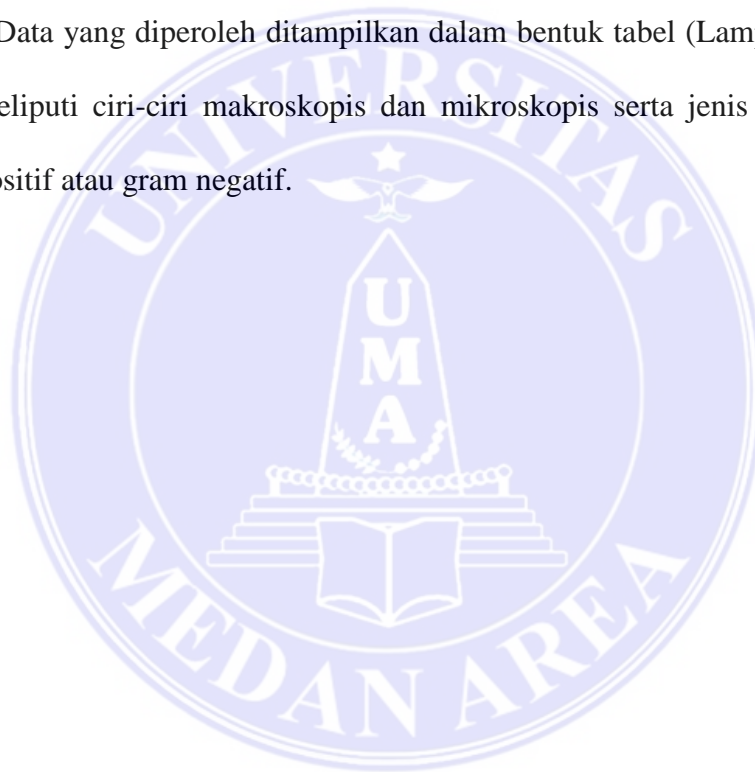


dengan metode tanam sinambung (zig zag). Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam.

Seluruh hasil karakterisasi yang diperoleh digunakan sebagai acuan untuk identifikasi genus bakteri patogen dengan cara mencocokkan dengan buku identifikasi.

### **3.6 Data Penelitian**

Data yang diperoleh ditampilkan dalam bentuk tabel (Lampiran 1 dan 2). Data meliputi ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis serta jenis bakteri apakah gram positif atau gram negatif.



## DAFTAR PUSTAKA

- Alamsyah, B. 2007. Pengelolaan Limbah di Rumah Sakit Pupuk Kaltim Bontang untuk Memenuhi Baku Mutu Lingkungan. Semarang. *Tesis*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Anggraeni, P. N. 2014. Potensi Konsorsium Mikroba dalam Meningkatkan Efektivitas Proses Pengolahan Limbah Cair Bir. *Tesis*. Program Pascasarjana Universitas Udayana. Denpasar.
- Anita dan Indira, A. J. 2012. Isolasi and Identifikasi of Bacteria From Biomedical Waste (BMW). *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 5: 975-1491.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2008. Pengujian Mikrobiologi Pangan. *Info Pom Edisi Maret*. 9(2): 1-7.
- Cita, Y.P. 2011. Bakteri *Salmonella typhi* dan Demam Tifoid. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 6(1): 42-46.
- Djaja, I.M & Maniksulistya. 2006. Gambaran Pengelolaan Limbah Cair di Rumah Sakit Jakarta. *Makara Kesehatan*. 10(2):60-63.
- Feng, Peter, Weagant, S. D dan Grant, M A. 2002. *Enumeration of Escherichia coli and the Coliform Bacteria* BAM (Bacteriological Analytical Manual). Chapter 4 Food and Drug Administration.
- Freney J, Kioos W E, Hajek & Webster J A. 1999. Recommended Minimal Standard for Description of new *Staphylococcal* Species. *Bacterio*. 49: 489-502.
- Hadioetomo, R S. 1990. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. Gramedia Pustaka : Jakarta.
- Irawati, N. 2008. Potensi Isolat Bakteri Kitinolitik Lokal dalam Pengendalian Fungi Patogen Tumbuhan. *Skripsi*. Program Studi Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.
- Jawetz E, Melnick J & Adelberg E. 2001. Mikrobiologi Kedokteran. Buku 1. Terjemahan Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta : Penerbit Salemba Medika.
- Kementerian kesehatan RI. 2011. Pedoman Teknis Instalasi Pengolahan Air Limbah dengan Sistem Biofilter Anaerob Aerob pada Fasilitas Pelayanan Kesehatan. Direktorat Jenderal Bina Upaya Kesehatan Direktorat Bina Pelayanan Penunjang Medik dan Sarana Kesehatan. Jakarta.

- Kumala S, Nancy R, Lestari R & Ariyana K. 2009. Uji Kepekaan Bakteri yang Diisolasi dari Urin Penderita Infeksi Saluran Kemih (ISK) terhadap Beberapa Antibiotika. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 6(2): 45-55.
- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta : PT Rajagrafindo Persada.
- McKane L. & Kandel J. 1998. *Microbiology. Essentials and Applications*. 2nd edition. McGraw-Hill, Inc. Philadelphia.
- Mulia, R. M. 2005. *Kesehatan Lingkungan*. Jakarta. Penerbit Graha Ilmu.
- Prantowati. 2009. Isolasi Karakteristik dan Identifikasi Bakteri yang Mempunyai Potensi Mendegradasi Fenol dari Limbah Cair Rumah Sakit. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Sunan Kalijaga. Yogyakarta.
- Pratiwi, D. 2013. Analisis Pengelolaan Limbah Medis Padat pada Puskesmas Kabupaten Pati. *Skripsi*. Jurusan Ilmu Kesehatan Masyarakat Fakultas Ilmu Keolahragaan. Universitas Negeri Semarang.
- Prastyo, C. E. 2012. Fektivitas Pengolahan Limbah Cair Rumah Sakit dengan Sistem Dewats dalam Menurunkan Angka Bakteri Coliform Di RS Panti Wilasa Citarum Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 1(2): 896 – 903.
- Pruss, A. 2005. *Pengelolaan Aman Limbah Layanan Kesehatan*. Jakarta : Penerbit ECG Buku Kedokteran.
- Putra, Y. 2011. Pengelolaan Limbah Rumah Tangga Upaya Pendekatan dalam Arsitektur. *Skripsi*. Program Studi Arsitektur. Fakultas Teknik. Universitas Sumatra Utara.
- Rahmawati, A.A & Azizah. 2005. Perbedaan Kadar BOD, COD, TSS, dan MPN *Coliform* pada Air Limbah, Sebelum dan Sesudah Pengolahan di RSUD Nganjuk. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*. 2(1): 97 – 110.
- Said, N.I & Marsidi, R. 2005. Mikroorganisme Patogen dan Parasit di dalam Air Limbah Domestik serta Alternatif Teknologi Pengolahan. *JAI*. 1(1):65-81.
- Setyawan, A B & Hartini, E. 2012. Evaluasi Pengolahan Limbah Cair Rumah Sakit dengan Sistem *Bio Natural*. Studi Kasus Di RSUD Kelet Jepara. *Jurnal Visikes*. 11 (1): 70 – 79.
- Sugiharto. 1987. *Dasar – Dasar Pengelolaan Air Limbah*. Jakarta : UI Press
- Sumisih, 2010. Studi tentang Pengelolaan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun (B3) di Rumah Sakit Islam Sultan Agung Semarang. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Kesehatan Masyarakat. Universitas Negeri Semarang.
- Waluyo, L. 2005. *Mikrobiologi Lingkungan*. Malang. Universitas Muhammadiyah. Malang.

Yuanita, E. 1999. Identifikasi Bakteri Patogen Limbah Cair PADA Instalasi Pengolah Air Limbah RSUD Dr. Moewardi Surakarta. *Skripsi*. Universitas Negeri Surakarta.

Zainab. 2009. Analisa Limbah Rumah Sakit. Makasar. *Laporan Penelitian*.

Jawetz E, Melnick J & Adelberg E. 2010. Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 25. Terjemahan Bagian Mikrobiologi. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Staf Pengajar Bagian Mikrobiologi FK UI. 2002. Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran. Edisi Revisi. Penerbit Binarupa Aksara.

Jawetz E, Melnick J & Adelberg E. 2004. Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 23. Terjemahan Bagian Mikrobiologi. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.



**Lampiran 1. Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri dari air limbah buangan akhir Rumah Sakit Umum Daerah Dr. RM. Djoelham Binjai**

| Sampel            | Warna Koloni  |                  |                 | Ukuran Koloni   |                 |        | Sifat Koloni |        |    |
|-------------------|---|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------|--------------|--------|----|
|                   | BA  | CA               | EA              | BA              | CA              | EA     | BA           | CA     | EA |
| 1                 | Putih   | Kuning           | -               | Kecil           | Sedang          | -      | δ-hemolisa   | -      | -  |
| 2                 | Putih   | Putih            | -               | Kecil,<br>halus | Kecil,<br>halus | -      | δ-hemolisa   | -      | -  |
| 3                 | -   | Putih            | Merah (metalik) | -               | Kecil           | Sedang | -            | Mucoid | -  |
| 4                 | -   | Putih kekuningan | Merah muda      | -               | Kecil           | Sedang | -            | Mucoid | -  |
| 5                 | -   | Putih            | Merah (metalik) | -               | Kecil           | Sedang | -            | Mucoid | -  |
| <i>Keterangan</i> | <i>BA ( Media Blood Agar)</i><br><i>CA (Media Cled Agar)</i><br><i>EA (Media Endo Agar)</i> |                  |                 |                 |                 |        |              |        |    |

**Lampiran 2. Karakteristik fisiologis isolat bakteri patogen dari air limbah buangan akhir Rumah Sakit Umum Daerah Dr. RM. Djoelham Binjai**

| Sampel | Pewarnaan Gram | MSA | Uji biokimia |     |     |         |         |                                 |                 | Jenis Bakteri                       |
|--------|----------------|-----|--------------|-----|-----|---------|---------|---------------------------------|-----------------|-------------------------------------|
|        |                |     | Katalase     | SCA | SIM | Glukosa | Sukrosa | TSIA Endapan (H <sub>2</sub> S) | Keretakan (Gas) |                                     |
| 1      | Positif        | +   | +            | -   | -   | -       | -       | -                               | -               | <i>Staphylococcus saprophyticus</i> |
| 2      | Positif        | -   | -            | -   | -   | -       | -       | -                               | -               | <i>Streptococcus δ-haemolyticus</i> |
| 3      | Negatif        | -   | -            | -   | +   | +       | +       | -                               | +               | <i>Eschericia coli</i>              |
| 4      | Negatif        | -   | -            | +   | -   | +       | -       | -                               | -               | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>       |
| 5      | Negatif        | -   | -            | -   | +   | +       | +       | -                               | +               | <i>Eschericia coli</i>              |



### Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian



Pengambilan sampel air limbah buangan akhir pada bak buangan akhir di IPAL RSUD Dr. RM. DJOELHAM, Binjai



Media *Brain Heart Infusion* (BHI), uji positif berupa kekeruhan



Penanaman pada media blood agar, cled agar, endo agar.



Pewarnaan gram



Reaksi biokimia katalase (+),  
koagulase (-), MSA(+)



Reaksi biokimia katalase (-),MSA(-)



Reaksi biokimia TSI : A/A, Gas (+),  
H<sub>2</sub>S (-), Indol (+), Simon sitrat (-)



Reaksi biokimia TSI : K/K, Gas (-),  
H<sub>2</sub>S (-), Simon sitrat (+), Indol (-)