

KARAKTERISASI BAKTERI LIMBAH CAIR LABORATORIUM ANALIS KESEHATAN SEBAGAI PENDEGRADASI LIMBAH

Erni Yohani Mahtuti¹, Farahdita Devi Masytoh²

¹STIKes Maharani Malang, ²STIKes Maharani Malang

¹yohanierni@gmail.com, ²farahdita@stikesmaharani.ac.id

Abstrak

Tujuan penelitian memperoleh isolat bakteri pada limbah laboratorium analis kesehatan yang mampu mendegradasi limbah. Jenis Penelitian deskriptif observasional laboratorik dengan metode penelitian meliputi 1). Isolasi mikroba limbah, pembuatan biakan murni dan pengamatan mikroskopis. 2). Karakterisasi dan uji biokimia menurut alir dikotomi dari Bergey's Manual of Determination Bacteriology, dilakukan pemeriksaan yang meliputi pewarnaan Gram, tahan asam dan spora. 3) Uji enzimatik amylase, protease dan selulose. 4) Uji biokimiawi isolate yang mendegradasi senyawa kimia selain senyawa organik, yang meliputi uji oksidase, motility, nitrat, lysine, ornithine, H₂O, Glukosa, Mannitol, xylose, ONPG, Indole, urease, V-P, citrate, TDA. Hasil penelitian membuktikan bahwa identifikasi bakteri limbah diketemukan spesies *Pseudomonas stutzeri*, *Proteus mirabilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri dapat menguraikan amylase dengan Indeks amylase yang dihasilkan adalah C1=0,45, C2=0,65 dan O7=0,87

Kata kunci : Bakteri; Pendegradasi; Limbah cair laboratorium

PENDAHULUAN

Limbah (waste) merupakan sesuatu yang tidak dipakai, tidak digunakan, tidak disenangi atau sesuatu yang dibuang, yang berasal dari kegiatan manusia dan tidak terjadi dengan sendirinya. Limbah cair merupakan bahan buangan berbentuk cair yang kemungkinan mengandung mikroorganisme patogen, bahan kimia beracun dan radioaktivitas. Menurut Depkes RI (1997) termasuk limbah medis yakni limbah infeksius, limbah radiologi, limbah sitotoksik dan limbah laboratorium. Limbah cair yang langsung dibuang di alam akan menimbulkan problema bagi kesehatan. Hal ini sejalan dengan penelitian [1] bahwa dalam limbah cair banyak mengandung senyawa kimia khususnya fosfat. Maka pengolahan limbah perlu dilakukan untuk menetralkan limbah sehingga aman bagi lingkungan. Pada kegiatan laboratorium limbah yang dihasilkan mempunyai sifat yang khas dan berbeda dengan limbah hasil kegiatan industri. Pada bahan buangan yang berasal dari laboratorium mempunyai keragaman jenis limbah yang lebih banyak walaupun setiap macam bahan yang dibuang jumlahnya tidak banyak [2]

Limbah berbahaya mempunyai sifat antara lain mudah terbakar, korosif, reaktif dan beracun. Bahan-bahan yang paling utama yang dapat terbiodegradasi, senyawa organik yang mudah menguap, senyawa organik yang sulit

terurai (rekalsitran), logam berat yang toksik, padatan yang tersuspensi, nutrient (nitrogen dan pospor), mikroba patogen dan parasit) [3]. Limbah akan memberikan pengaruh dan mengganggu lingkungan baik yang berasal dari industri, limbah domestik ataupun limbah pada instansi kesehatan.

Dalam limbah laboratorium kemungkinan akan ditemukan mikroba yang mampu tetap bertahan dan hidup dalam limbah seperti penelitian dari [4] bahwa diketemukan adanya isolate bakteri yang mampu untuk mendegradasi amilum, selulosa dan protein yakni genus *Bacillus sp* pada limbah organik yakni pada septik tank. Dengan adanya kemampuan ini maka mikroba tersebut mempunyai kemampuan untuk mendegradasi limbah secara biologi. Tujuan penelitian memperoleh isolat bakteri yang mampu bertahan hidup pada limbah laboratorium analis kesehatan dan mendeteksi adanya kemampuan dalam mendegradasi amilum, selulosa, protein serta senyawa non organik yang dapat digunakan sebagai isolate pendegradasi limbah.

METODE PENELITIAN

a. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif observasional laboratorik. Teknik pengambilan sampel secara *purposive sampling*.

Jenis sampel adalah limbah cair laboratorium sebanyak 250 ml

b. Subyek penelitian

Subyek penelitian adalah limbah laboratorium Analisis Kesehatan yang ditentukan secara *purposive sampling*

c. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan penelitian ini yaitu media padat berupa Nutrien agar (NA), Mc. Conkey dan media transport (*ice box*), sampel limbah 250 ml, congo red 1%, CMC agar, Milk Agar, Strarch Agar, iodium mordant, alkohol 70%, NaCl 1%, reagen-reagen uji biokimia

d. Tahapan dalam penelitian

adalah sebagai berikut:

- 1) Pembuatan biakan murni dengan proses purifikasi dari sumber inokulan yang sebelumnya dilakukan pengenceran dan penanaman pada media nutrien agar yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada pembuatan biakan murni, satu koloni bakteri diinkubasi pada suhu 37°C buat pengenceran dan dilakukan stricking pada media nutrient agar diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian dilakukan pengamatan makroskopis morfologi koloni bakteri dilanjutkan pengamatan mikroskopis. Koloni yang tumbuh dipurifikasi, satu koloni bakteri dari medium pengenceran diambil, digoreska ke medium yang baru kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Saat menanamkan bakteri ke media selanjutnya dilakukan sebanyak 3 kali. Pengamatan yang dilakukan makroskopis dan mikroskopis.
- 2) Tahap yang kedua yaitu uji identifikasi dan uji biokimia. Untuk identifikasi dan karakteristiknya disesuaikan menurut alir dikotomi dari *Bergey's Manual of Determination Bacteriology*. Dalam pengujian bakteri diremajakan pada medium nutrient agar hingga diperoleh isolate berumur 24 jam. Kemudian dilakukan pemeriksaan yang meliputi pewarnaan Gram, Pewarnaan tahan asam dan pewarnaan endospore. Sedangkan untuk uji biokimia meliputi uji fermentasi glukosa, uji

kebutuhan oksigen, uji katalase, uji ketahanan Na⁺ dan uji oksidase. Bakteri hasil inokulasi diremajakan pada medium NA dan diinkubasi selama 24 jam. Sedangkan Uji biokimiawi untuk mengidentifikasi mikroba yang mendegradasi senyawa kimia selain senyawa organik, meliputi uji oksidase, katalase, pencairan gelatin, sitrat, urase, metil red, vages poskauer, nitrat, indol, serta motilitas [5].

- 3) Uji enzimatik terhadap amylase, protease dan selulose.
 - a. Uji enzimatik terhadap amylase dengan cara menggoreskan isolate pada media Starch agar kemudian bakteri diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. kemudian ditetaskan Gram's iodine pada biakan dan diamati zona bening yang terbentuk.
 - b. Uji protease dengan cara bakteri ditumbuhkan pada media Skim Milk Agar dan diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. terlihat zona bening.
 - c. Uji selulolitik dilakukan dengan cara menguji isolate bakteri dan meninokulasikan pada media yang mengandung selulosa murni yaitu carboxy methyl cellulose (CMC) dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Koloni yang tubuh dicuci dengan larutan congo red 0,1% selama 10 menit dan dibilas dengan NaCl 1%, hasil akan tampak zona bening disekitar koloni. Indek hasil dihitung dengan cara sebagai berikut :

$$IA/IS/IP = \frac{X1-X2}{X2}$$

Keterangan:

IA/IS/IP=Indeks aktivitas amilolitik, selulolitik, proteolitik

X1 = Rata-rata diameter zona bening

X2 = Rata-rata diameter koloni [6]

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada hasil isolasi limbah cair laboratorium, setelah dilakukan inkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37°C dan dilakukan pewarnaan serta penanaman pada media miring

maka dihasilkan beberapa isolate mikroba yakni sebagai berikut:

Tabel 1. Isolat bakteri limbah laboratorium Analis Kesehatan STIKes Maharani

Tabel 1. Isolat dan Hasil Uji Pewarnaan Gram

No	isolat	Gram
1.	C1	- (negative)
2.	C2	- (negative)
3.	O7	- (negative)

Berdasarkan identifikasi pada proses uji pewarnaan didapatkan hasil seperti pada gambar berikut:



Gambar 1. Isolat O7 Gram – berbentuk batang

Bakteri hasil inokulasi diremajakan pada medium NA dan diinkubasi selama 24 jam. Pada uji biokimia meliputi Identifikasi mikroba dengan uji oksidase, katalase, pencairan gelatin, sitrat, urase, metil red, vages poskauer, nitrat, indol, serta motilitas. Didapatkan hasil seperti pada tabel 2 berikut ini:

Tabel 2. Spesies bakteri hasil karakterisasi

Sampel	Hasil identifikasi
C1	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
C2	<i>Proteus mirabilis</i>
O7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Sedangkan uji enzimatik amylase, protease dan selulolitik maka didapatkan hasil bahwa isolate hanya mampu untuk menguraikan enzim amylase saja hal ini menunjukkan kemampuan bakteri dalam mendegradasi atau menguraikan limbah yang mengandung amilum.



Gambar 2. Hasil Uji Enzimatik Amylase terhadap Isolate O7

Adapun indeks amylase rata-rata yang dihasilkan oleh C1=0,45, C2=0,65 dan O7=0,87.

4.2 Pembahasan

Potensi secara kualitatif aktifitas bakteri dilakukan dengan menguji aktivitas bakteri dalam mendegradasi amilum dengan media

starch agar [4]. Pada media, yang ditambahkan Gram's iodine mordant akan terbentuk zona bening. Hal ini menunjukkan bakteri mempunyai kemampuan enzim amylase ekstraseluler yang dapat menghidrolisis pati yang terkandung dalam media starch agar tersebut. Amilum yang telah terdegradasi tidak dapat berikatan dengan iodine sehingga terbentuk zona bening di daerah sekitar koloni bakteri. Seperti halnya dari hasil penelitian ini pada gambar 2; khususnya isolate C1, C2 dan O7 yang berdasarkan uji biokimia serta microbact menunjukkan spesies tersebut adalah *Pseudomonas stutzeri*, *Proteus mirabilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Pada medium susu skim (Skim Milk Agar) yang digunakan untuk mengetahui potensi bakteri dalam mendegradasi limbah yang mengandung protein belum menunjukkan zona bening. Hal ini membuktikan bahwa bakteri tidak mampu dalam mensekresikan enzim protease. Bila mampu membentuk zona bening menunjukkan bahwa terjadi reaksi penguraian protein menjadi asam amino oleh enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri pada media tersebut.

Serta kemampuan dalam mendegradasi selulolitik menunjukkan bahwa bakteri mampu mensekresikan enzim selulosa. Hal ini dapat diuji dengan mengukur indeks selulolitik yang terbentuk pada zona bening disekeliling bakteri pada media CMC (*Carboxy methyl cellulose*). Zona bening terlihat setelah ditambahkan congo Red 1% dan dilunturkan dengan NaCl 1% untuk menghilangkan warna, medium yang mengandung selulosa terlihat merah karena adanya ikatan dengan pewarna congo red 1% . Hasil penelitian belum menunjukkan hal ini, maka isolate yang ditemukan belum mampu atau tidak mampu untuk mendegradasi selulosa.

Bila isolate yang ditemukan mempunyai kemampuan mendegradasi substrat yang mengandung selulosa maka bakteri tersebut mampu mengubah selulosa menjadi gula sederhana sehingga mampu digunakan sebagai sumber karbon dan energi bagi metabolisme pertumbuhan bakteri tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri dapat memproduksi enzim selulose yang merupakan biokatalisator pada proses hidrolisa selulosa menjadi selulosa yang rantainya lebih pendek ataupun oligosakarida yang selanjutnya akan diuraikan menjadi glukosa. Selulose merupakan enzim-enzim yang saling bekerjasama secara sinergi

sehingga mampu untuk menghidrolisa selulosa [7].

Inokulan yang ditemukan adalah *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, dimana mampu mendegradasi limbah laboratorium untuk senyawa terlarut mengandung amilum. Berdasarkan beberapa penelitian sebenarnya bakteri ini mempunyai kemampuan untuk mendegradasi amilum, protein ataupun selulosa. Tetapi aktivitas bakteri tersebut tidak tampak jelas, karena dari hasil penelitian isolate yang banyak ditemukan dalam limbah lebih banyak mengarah pada spesies *Proteus mirabilis*. Didalam proses pengolahan atau pendegradasian senyawa terjadi simbiosis sinergisme tetapi berdasarkan hasil penelitian bahwa yang banyak ditemukan adalah *Proteus mirabilis* dimana bakteri ini bersifat patogen sehingga proses tidak berjalan maksimal dan aktivitas tidak terlihat dengan jelas. *Pseudomonas aeruginosa* berdasarkan penelitian [1] mampu menurunkan kadar fosfat dalam limbah cair rumah sakit hingga 5,17 mg/l dalam waktu 15 hari dan penambahan bakteri ini mampu menurunkan kandungan fosfat dalam limbah sebesar 47,30%.

Kehadiran mikroorganisme pendegradasi cemaran pada habitatnya akan mampu melakukan remediasi atau pemulihan, tetapi dalam jumlah populasinya yang rendah dan suplemen tertentu menyebabkan kemampuan remediasinya rendah. Keefektifan bioremediasi sangat ditentukan oleh konsentrasi mikroba pendegradasi cemaran, konsentrasi cemaran, faktor fisik dan kimia [8].

Aktivitas mikroba yang mampu melakukan remediasi diketahui dengan berubahnya kandungan beberapa bahan kimia limbah seperti sulfat, fosfat, amoniak, nitrat, dan dengan mengamati nilai COD, BOD [9]. Maka uji dalam penelitian ini harus lebih banyak dilakukan ulangan untuk memastikan aktivitas amilolitik, selulolitik dan protease dari bakteri yang berdasarkan hasil penelitian –penelitian yang lain, mampu untuk mendegradasi senyawa organik seperti bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Pseudomonas stutzeri*.

KESIMPULAN

Adapun kesimpulan dari penelitian yakni:

a. Berdasarkan karakterisasi isolate bakteri limbah Analisis Kesehatan yakni spesies

Pseudomonas stutzeri, *Proteus mirabilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa*.

b. Isolate dengan indeks amilolitik adalah C1, C2 dan O7 yakni berdasarkan uji biokimia dan juga microbact adalah *Pseudomonas stutzeri*, *Proteus mirabilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Indeks yang dihasilkan adalah C1=0,45, C2=0,65 dan O7=0,87

Saran penelitian ini adalah sebagai berikut:

Melakukan pengulangan yang lebih banyak lagi untuk memastikan kemampuan bakteri dengan uji indeks aktivitas sehingga lebih signifikan serta menguji bakteri temuan pada limbah dengan bahan kimia kompleks

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Litaay, G. Welma, 2013. 2013Kemampuan *Pseudomonas aeruginosa* dalam menurunkan kandungan fosfat limbah rumah sakit Yogyakarta Universitas Atma Jaya, Fakultas Teknobiologi, Program Studi Biologi
- [2] Lestari & Chairlan, 2011. *Pedoman Teknik Dasar Untuk Laboratorium Kesehatan Edisi 2* Jakarta EGC
- [3] Waluyo, 2016. *Mikrobiologi Umum* Malang Cetakan kelima UMM Press
- [4] Zahidah & Shovitri, 2013. Isolasi, Karakterisasi dan Potensi Bakteri Aerob Sebagai pendegradasi Limbah Organik Sains dan POPMITS Vol 2 No 1 hal E 12
- [5] Waluyo, L. 2010. *Teknik dan Metode Mikrobiologi*. Malang Cetakan kedua. UMM Press
- [6] Astriani, 2017. Skrinning Bakteri Selulolitik Asal tanah Kebun Pisang (Musa paradisca) *Jurnal Biota* 6-10
- [7] Mulyasari, 2015. Seleksi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik Penderadasi daun singkong yang diisolasi dari saluran cerna ikan gurami 2015 *JPB Kelautan dan Perikanan* Vol 10 no 2 hal 111-121
- [8] Irianto, 2006. *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme* Bandung C .YRAMA WIDYA
- [9] Karim, 2015. *Perbaikan Mutu Limbah Rumah Sakit dengan Beberapa Mikroba* Medan Area Fakultas Biologi.