

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PATOGEN
DARI LIMBAH CAIR RSUD DR. PIRNGADI
KOTA MEDAN**

SKRIPSI

**OLEH:
DUMA SARIE GURUSINGA
228700006**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
2024**

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 20/1/25

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PATOGEN
DARI LIMBAH CAIR RSUD DR. PIRNGADI
KOTA MEDAN**

SKRIPSI

*Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
Sarjana di Fakultas Sains Dan Teknologi
Universitas Medan Area*



OLEH:

**DUMA SARIE GURUSINGA
228700006**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
2024**

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 20/1/25

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Patogen dari
Limbah Cair RSUD DR. Pirngadi Kota Medan
Nama : Duma Sarie Gurusinga
NPM : 228700006
Program Studi : S-1 Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi

Disetujui Oleh :
Komisi Pembimbing



Rahmiati, S.Si, M.Si
Pembimbing



Dr. Perdinand Susilo, S.Si, M.Si
Dekan



Rahmiati, S.Si, M.Si
Ketua Program Studi

Tanggal Lulus: Agustus 2024

HALAMAN PERNYATAAN

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

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



Medan, Agustus 2024

Duma Sarie Gurusinga

228700006

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR/SKRIPSI/TESIS UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sisvitas akademik Universitas Medan Area, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Duma Sarie Gurusinga
NPM : 228700006
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains & Teknologi
Jenis karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Medan Area **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Patogen dari Limbah Cair RSUD DR. Pirngadi Kota Medan.

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Medan Area berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir/skripsi/tesis saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat : Universitas Medan Area
Pada Tanggal : Agustus 2024
Yang Menyatakan,



(Duma Sarie Gurusinga)

ABSTRAK

Rumah sakit sebagai sarana dan upaya untuk meningkatkan Kesehatan yang akan menghasilkan buangan atau limbah dalam bentuk padat, cair dan gas. Ketiga jenis limbah tersebut berpotensi mencemari lingkungan. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juli 2024 di Laboratoirum Instalasi Air Limbah Kesehatan Lingkungan, Rumah Sakit Dr. Pringadi Medan, Sumatera Utara. Jenis penelitian yang dilakukan adalah deskriptif kualitatif dan kuantitatif dengan metode cawan gores dan cawan tuang. Penelitian dilaksanakan secara *in vitro* di laboratorium. Sampel penelitian berupa limbah cair yang diperoleh dari Rumah Sakit Dr. Pringadi Medan. Limbah cair yang digunakan merupakan limbah cair outlet yaitu limbah yang sudah melalui proses pengolahan di kolam inlet dan kolam scraper. Hasil penelitian menunjukkan bahwa limbah cair yang diujikan mengandung bakteri patogen *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypii*. Limbah cair rumah sakit mengandung senyawa organik, mengandung senyawa kimia (seperi fosfat dan amonia) dan mengandung gas sehingga sangat mungkin dijadikan sebagai habitat pertumbuhan bakteri, termasuk bakteri patogen. Bakteri *Eschericia coli* dan *Salmonella thypi* merupakan bakteri patogen, gram negatif yang mengkolonisasi saluran pencernaan manusia. Pada umumnya infeksi kedua bakteri patogen ini akan menyebabkan diare dan luka pada usus. Sedangkan bakteri *S.aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat.

Kata kunci: Rumah sakit, limbah cair, bakteri, patoogen *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypii*.

ABSTRACT

*Hospitals as a means and effort to improve health will produce waste or waste in the form of solids, liquids and gases. These three types of waste have the potential to pollute the environment. This study was conducted from May to July 2024 at the Environmental Health Wastewater Installation Laboratory, Dr. Pringadi Hospital, Medan, North Sumatra. The type of research conducted was descriptive qualitative and quantitative with the scratch plate and pour plate methods. The study was conducted in vitro in the laboratory. The research sample was liquid waste obtained from Dr. Pringadi Hospital, Medan. The liquid waste used was outlet liquid waste, namely waste that had gone through a processing process in the inlet pool and scraper pool. The results of the study showed that the liquid waste tested contained pathogenic bacteria *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypii*. Hospital liquid waste contains organic compounds, contains chemical compounds (such as phosphate and ammonia) and contains gas so that it is very likely to be used as a habitat for bacterial growth, including pathogenic bacteria. *Eschericia coli* and *Salmonella thypi* are pathogenic, gram-negative bacteria that colonize the human digestive tract. In general, infection of these two pathogenic bacteria will cause diarrhea and intestinal ulcers. While *S.aureus* bacteria are gram-positive bacteria that are round in shape.*

Keywords: *Hospital, liquid waste, bacteria, pathogenic *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypii*.*

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Medan, pada tanggal 15 September 1973 dari Ayah Drs. Hayat Gurusinga dan Ibu Ganin Sembiring. Penulis merupakan putri kedua dari tiga bersaudara. Tahun 1986 penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri no: 030284 Sidikalang. Pada tahun 1989 penulis menyelesaikan pendidikan di SMP Negeri 2 Sidikalang. Pada tahun 1992 penulis menyelesaikan pendidikan di SMU Swasta Cahaya 2 Sidikalang. Pada tahun 1997 penulis menyesuaikan Pendidikan D3 Kimia Analisis di Universitas Sumatera Utara dan pada tahun 2022 terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Sainstek dan Teknologi di Prodi Program Studi Biologi Universitas Medan Area.



KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis ucapkan kepada Tuhan YME, karena atas izin-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Patogen dari Limbah Cair RSUD DR. Pirngadi Kota Medan”.

Terimakasih saya sampaikan kepada Dosen Pembimbing Ibu Rahmiati, S.Si, M.Si yang telah membimbing dan memberikan saran untuk kesempurnaan skripsi ini. Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada Fungsiaris Fakultas Bapak Dekan Dr. Ferdinand Susilo, M.Si dan Ibu Wakil Dekan Bidang Penjaminan Mutu Akademik dan Ka.Prodi Ibu Rahmiati, S.Si, M.Si.

Saya juga menyampaikan terima kasih kepada pihak keluarga dan rekan – rekan sejawat yang terus memberikan dukungan selama proses studi. Skripsi ini masih jauh dari sempurna, untuk itu saya mengharapkan saran dan masukan yang membangun untuk kesempurnaan dan perbaikan sehingga skripsi ini dapat memberikan manfaat. Terima kasih.

Medan, Agustus 2024



Duma Sarie Gurusinga

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Rumah Sakit.....	5
2.2 Limbah Rumah Sakit.....	5
2.3 Limbah Cair Rumah Sakit.....	6
2.4 Bakteri <i>Eschericia coli</i>	7
2.5 Patogenitas Bakteri <i>E. coli</i>	8
BAB III METODE PENELITIAN	11
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	11
3.2 Alat dan Bahan	11
3.3 Metode Penelitian	11
3.4 Sampel Penelitian	11
3.6 Analisis Data	15
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	16
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	21
DAFTAR PUSTAKA	22
LAMPIRAN	24

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Bakteri patogen pada Limbah Cair RSUD Dr. Pirngadi.....	16
2. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis bakteri patogen.....	19
3. Hasil perhitungan total bakteri pada limbah cair RSUD Dr. Pirngadi	20



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Bakteri <i>Eschericia coli</i>	8
2. Pertumbuhan bakteri <i>E. coli</i>	17
3. Pertumbuhan bakteri <i>S.aureus</i>	17
4. Pertumbuhan bakteri <i>S. thypi</i>	18
5. Hasil Pewarnaan	19
6. Pertumbuhan total bakteri	20



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Dokumentasi penelitian.....	24



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rumah sakit sebagai sarana dan upaya untuk meningkatkan Kesehatan. Rumah sakit tidak hanya terdiri dari balai pengobatan dan tempat praktik dokter saja, tetapi juga ditunjang oleh unit pendukung lain seperti ruang operasi, laboratorium, instalasi farmasi, administrasi, dapur, *laundry*, pengolahan sampah dan limbah, serta penyelenggaraan pendidikan dan pelatihan. Rumah sakit akan menghasilkan buangan atau limbah dalam bentuk padat, cair dan gas. Ketiga jenis limbah tersebut berpotensi mencemari lingkungan (Wulandhani *et al.*, 2023).

Kota Medan merupakan kota terbesar ketiga di Indonesia dan paling padat penduduk di Provinsi Sumatera Utara. Terdapat banyak fasilitas Kesehatan di Kota Medan salah satunya Rumah Sakit tua yaitu RSUD Dr. Pirngadi.

Rumah Sakit Umum Dr. Pirngadi Medan di jalan Prof H.M Yamin, SH No. 47 Medan, yang didirikan pada tanggal 11 Agustus 1928 oleh pemerintah kolonial Belanda dengan nama *Gementa Zieken Huis*. Nama rumah sakit mengalami beberapa kali perubahan. Pada 25 Juni 1979 sesuai dengan surat keputusan Gubernur Sumatera Utara Nomor 150, ditetapkan nama rumah sakit menjadi Rumah Sakit Umum Dr. Pirngadi Medan yang berasal dari nama pemimpin pertama putra bangsa yang menjabat. Rumah Sakit Umum Dr. Pirngadi Medan, memiliki visi yaitu Menjadi Rumah Sakit Rujukan dan Unggulan dalam Pelayanan, Pendidikan, Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat dibidang Kesehatan.

Banyaknya unit yang ada di rumah sakit sejalan dengan padatnya kegiatan yang dilakukan disana. Kegiatan – kegiatan tersebut tentunya menghasilkan produk

samping berupa limbah. Air limbah yang dihasilkan di Rumah Sakit Umum Dr. Pirngadi Medan berasal dari berbagai sumber ruangan dan gedung. Sumber tersebut antara lain air limbah dari sisa air laundry, kamar pasien, kantor, kamar mayat, dapur, air limbah yang berasal dari laboratorium dan ruang farmasi, air limbah yang berasal dari ruang poliklinik, air limbah yang berasal dari ruang operasi dan air limbah yang berasal dari ruang IGD dan ICU. Air limbah tersebut akan dialirkan menuju instalasi pengolahan limbah (IPAL).

Rawis *et al* (2022) menyatakan bahwa, limbah rumah sakit mengandung mikroorganisme patogen yang bersifat infeksius, bahan kimia berbahaya dan limbah yang bersifat radioaktif. Menurut Setiarini & Mangkoedihardjo (2013), limbah padat rumah sakit dibedakan menjadi limbah padat medis dan *non* medis. Limbah padat medis terbagi menjadi beberapa bagian antara lain limbah infeksius, limbah patologis, limbah benda tajam, limbah farmasi, limbah sitotoksik, limbah kimiawi, limbah radioaktif, limbah container bertekanan, dan limbah dengan kandungan logam berat yang tinggi.

Mikroorganisme yang terdapat di dalam limbah rumah sakit dapat berupa virus, jamur, protozoa dan bakteri. Bakteri yang hidup di dalam air limbah tersebut dapat bersifat aerob, anaerobic fakultatif dan anaerob obligat (Buntaa *et al.*, 2019). Bakteri coliform mampu bertahan hidup pada limbah cair rumah sakit (Winarti, 2020). Mikroorganisme patogen yang terdapat di dalam limbah cair Rumah Sakit dapat membahayakan kesehatan masyarakat. Beberapa bakteri patogen yang berasal dari limbah rumah antara lain *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Vibrio cholerae*, *Streptococcus* sp. dan *coliform*. Salah satu jenis bakteri coliform tersebut adalah *Eschericia coli*. Mikroorganisme patogen tersebut dianggap berbahaya karena

dapat menyebabkan penyakit seperti diare. Limbah cair Rumah Sakit jika tidak dikelola terlebih dahulu dapat mencemari air permukaan, air tanah dan mengganggu biota pada badan-badan air, sehingga diperlukan penanganan pada limbah cair rumah sakit.

Eschericia coli merupakan bakteri enterik yang hidup pada saluran pencernaan manusia dan biasanya dikeluarkan ke lingkungan melalui feses. Bakteri *E. coli* bersifat patogen oportunistik dan menyebabkan penyakit diare (Zahroh, 2019). Menurut Peraturan Menteri Lingkungan Hidup RI Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Baku Mutu Air Limbah, bahwa fasilitas pelayanan kesehatan melakukan pengolahan limbah domestik dan limbah bahan berbahaya dan beracun, wajib memenuhi baku mutu air limbah sebagaimana tercantum dalam Peraturan Menteri ditetapkan menurut peraturan yang berlaku. Hal ini dimaksudkan agar limbah yang akan dibuang ke lingkungan sudah memenuhi baku mutu dan tidak menimbulkan gangguan pada lingkungan sekitar.

Berdasarkan paparan latar belakang tersebut, perlu dilakukan analisis terhadap keberadaan bakteri *Eschericia coli* pada limbah cair RSUD Dr. Pirngadi Medan.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana karakteristik bakteri patogen yang diisolasi dari limbah cair Rumah Sakit Dr. Pringadi Medan.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik bakteri patogen dari limbah cair Rumah Sakit Dr. Pringadi Medan.

1.4 Manfaat Penelitian

Sebagai bahan informasi tentang karakteristik bakteri *Eschericia coli* yang diisolasi dari limbah cair Rumah Sakit Dr. Pringadi Medan.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rumah Sakit

Rumah sakit diartikan sebagai institusi pelayanan kesehatan yang menyelenggarakan pelayanan secara *komprehensif, kuratif* dan *preventif* yang menyediakan pelayanan rawat inap, rawat jalan, dan gawat darurat (Permenkes, 2020; WHO, 2013). Rumah sakit juga berperan sebagai pusat pelatihan bagi tenaga kesehatan dan para peneliti di bidang kesehatan.

Kegiatan yang ada di rumah sakit beraneka ragam, dan ada beberapa yang berpotensi menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan yang ada di sekitarnya. Kegiatan di rumah sakit akan menghasilkan limbah Air limbah yang dihasilkan oleh rumah sakit merupakan air limbah yang termasuk kedalam pencemar air yang sangat potensial. Berdasarkan Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan (LHK), Nomor 68 tahun 2016 mengenai Baku Mutu Air Limbah Domestik, air limbah adalah air hasil yang berasal dari suatu usaha/kegiatan, dan air limbah domestik berasal dari kegiatan sehari-hari manusia yang berhubungan dengan pemakaian air (Asmadi, 2013).

2.2 Limbah Rumah Sakit

Limbah diartikan sebagai bahan sisa dari suatu usaha maupun kegiatan yang mengandung senyawa berbahaya atau beracun yang karena sifat, konsentrasi, dan jumlahnya, baik yang secara langsung maupun tidak langsung dapat membahayakan lingkungan, kesehatan, kelangsungan hidup manusia dan makhluk hidup lainnya. Limbah rumah sakit dapat dibedakan menjadi dua kelompok yaitu

limbah *infeksius* dan limbah *non infeksius*. Limbah infeksius diastikan sebagai 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 dapat membahayakan dan menimbulkan penyakit (Wulandhani *et al.*, 2023).

Limbah rumah sakit diartikan sebagai keseluruhan sampah dan limbah yang dihasilkan dari kegiatan rumah sakit dan kegiatan penunjang lainnya. Beberapa komponen penyusun limbah antara lain senyawa organik yang dapat diuraikan, senyawa *volatile*, senyawa organik yang sulit terurai (rekalsitran), logam berat, padatan tersuspensi, nutrien, mikroorganisme patogen. Pengawasan tentang pengelolaan dan cara pengolahan limbah rumah sakit diperlukan agar terjadi peningkatan pelayanan Kesehatan, sehingga lebih bermutu seiring dengan meningkatnya kebutuhan masyarakat akan pelayanan kesehatan (Astuti & Purnama, 2014).

2.3 Limbah Cair Rumah Sakit

Limbah cair rumah sakit adalah semua limbah cair yang berasal dari rumah sakit yang dapat mengandung mikroorganisme, bahan kimia beracun dan seyawa radioaktif. Limbah cair rumah sakit meliputi limbah cair domestik (buangan kamar mandi, dapur, air bekas pencucian pakaian dan lain-lain), kemudian limbah cair klinis (air bekas cucian luka, cucian darah), dan limbah cair laboratorium (buangan hasil pemeriksaan seperti darah, urin, dan lain-lain). Air limbah rumah sakit yang berasal dari buangan domestik maupun klinis umumnya mengandung organik yang cukup tinggi dan dapat diolah dengan proses pengolahan secara biologi (Asmadi, 2013).

Limbah cair mengandung bahan organik dan anorganik yang terlarut. Limbah cair rumah sakit memiliki beban pencemaran besar dan dapat menyebabkan pencemaran terhadap lingkungan hidup dan menyebabkan gangguan kesehatan manusia. Parameter kualitas limbah cair penting untuk diketahui yaitu BOD, COD, pH, TSS, Minyak dan Lemak, Amonia, dan Total bakteri coliform. Dalam pengolahannya limbah cair memerlukan Instalasi Pengolahan Air Limbah. Hal ini bertujuan agar limbah yang dihasilkan sudah memenuhi baku mutu yang ditetapkan sebelum akhirnya dibuang ke badan air. Dengan adanya Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) maka air limbah yang dihasilkan oleh rumah sakit akan dapat dikelola dengan baik dan sesuai dengan baku mutu yang ditetapkan pemerintah (Habibi, 2020).

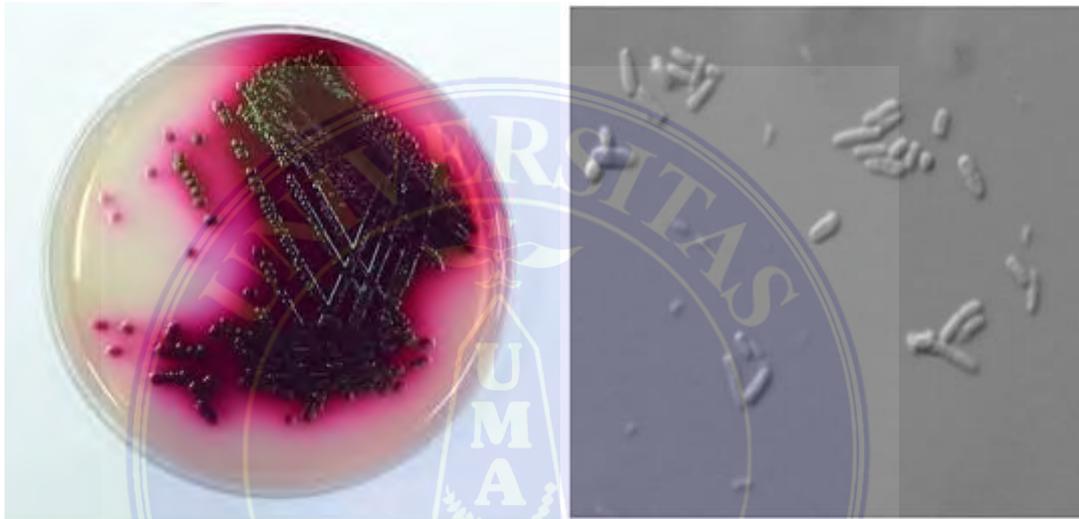
2.4 Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* adalah jenis bakteri yang hidup secara alamiah pada saluran pencernaan hewan dan manusia. Peranana bakteri tersebut sebagai flora normal di saluran pencernaan. Keberadaan bakteri *E. coli* di alam mengindikasikan adanya kontaminasi yang berasal dari kotoran atau feses hewan dan manusia.

Pada sistem klasifikasi *Escherichia coli* termasuk kelompok Enterobacteriaceae (Yang dan Wang 2014). Bakteri *Escherichia coli* termasuk bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya. Selain dikenal sebagai bakteri patogen, *E. coli* memiliki peranan sebagai pengurai di lingkungan (de Verdier *et al.*, 2012).

Karakteristik mikroskopik bakteri *E. coli* yaitu berbentuk basil (batang) atau basil pendek, berukuran 1.0-1.5 μm x 2.0-6.0 μm , bersifat motil atau non-motil dan

dapat tahan pada media yang miskin nutrisi dan pH asam (Manning, 2010). *Eschericia coli* termasuk kelompok bakteri Gram negatif yang menunjukkan koloni berwarna merah setelah pengecatan Gram. Bakteri *E. coli* dapat memfermentasikan laktosa dan bersifat anaerob fakultatif. Pada media selektif seperti *eosin methylene blue agar*, koloni *E. coli* akan membentuk warna hijau metalik sebagai hasil dari proses fermentasi laktosa yang dilakukannya (Trisno *et al.*, 2019).



Gambar 1. Bakteri *Eschericia coli* (a) kultur di media endo agar masa inkubasi 48 jam (b) sel bakteri di bawah mikroskop perbesara 400 kali
(Sumber: Chan *et al.*, 2014)

2.5 Patogenitas *Eschericia coli*

Bakteri patogen adalah bakteri yang dapat menimbulkan penyakit baik melalui invasi langsung atau mencemari makanan. Patogenitas diartikan sebagai kemampuan bakteri patogen dalam menimbulkan penyakit. Patogenisitas akan dipengaruhi oleh kemampuan bakteri patogen dalam menghasilkan enzim, toksin ataupun senyawa metabolit sekunder lainnya (Putra, 2019).

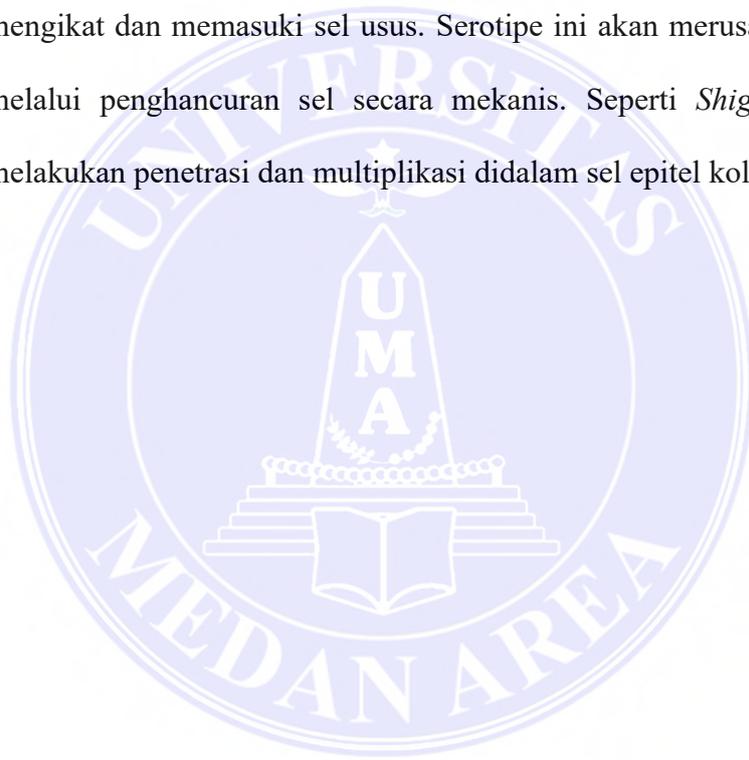
Bakteri *E. coli* adalah salah satu bakteri yang digunakan sebagai indikator adanya kontaminasi feses dan sanitasi yang tidak baik terhadap air, makanan, dan minuman. Berdasarkan tipe serotipenya, bakteri *E. coli* dikelompokkan menjadi 5

jenis diantaranya; enterotoksigenik *E. coli* (ETEC), *enteroinvasif E. coli* (EIEC), enteropatogenik *E. coli* (EPEC), enterohemoragik *E. coli* (EHEC), dan *enteroagregatif E. coli* (EAEC) (Rahayu *et al.*, 2018).

- a. Enterotoksigenik *E. coli* (ETEC), mempunyai 2 faktor virulensi yang penting yaitu (1) faktor kolonisasi yang menyebabkan bakteri ini melekat pada usus halus dan (2) enterotoksin *heat labile* (HL) dan *heat stabile* (ST) yang menyebabkan sekresi cairan dan elektrolit sehingga menyebabkan diare berat *watery diarrhea*. Tipe ETEC dapat berkembang di lingkungan yang memiliki sanitasi kurang baik, sehingga mencemari makanan dan minuman. ETEC menghasilkan racun yang bekerja pada lapisan usus, dan merupakan penyebab paling umum diare saat bepergian.
- b. Enteropatogenik *E. coli* (EPEC), akan melekat pada sel epitel usus inang dan menyebabkan kerusakan dari membrane mikro villi. Hal ini akan mengganggu bagian permukaan absorpsi cairan dan aktifitas enzim disakaridase. EPEC menyebabkan wabah diare di kamar bayi yang baru lahir.
- c. Enteroaggregative *E. coli* (EAaggEC), akan melekat kuat pada mukosa usus halus dan menyebabkan perubahan morfologi yang khas pada usus halus. Serotipe ini, menjadi penyebab umum diare pada wisatawan di daerah yang memiliki sumber daya atau sanitasi yang kurang baik. EAaggEC juga menyebabkan diare akut dan kronis pada anak.
- d. Enterohemoragik *E. coli* (EHEC), merupakan tipe paling umum menyebabkan penyakit. Mampu memproduksi *verocytotoxin 1 dan 2* (VT) atau disebut *shiga-like toksin* yang menimbulkan edema dan perdarahan di

kolon. Serotipe ini banyak ditemukan pada buah, sayur, daging yang terkontaminasi. Jenis EHEC, *E. coli* O157:H7, dapat menyebabkan diare berdarah dan sindrom uremik hemolitik (anemia dan gagal ginjal).

- e. Enteroinvasive *E. coli* (EIEC), secara serologi dan biokimia mirip dengan bakteri *Shigella* sp. EIEC merupakan salah satu jenis bakteri patogen yang infeksiya menyebabkan sindrom berupa diare yang banyak dan demam tinggi EIEC sangat invasif dan menggunakan protein adhesin untuk mengikat dan memasuki sel usus. Serotipe ini akan merusak dinding usus melalui penghancuran sel secara mekanis. Seperti *Shigella* sp., EIEC melakukan penetrasi dan multiplikasi didalam sel epitel kolon.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juli 2024 di Laboratoirum Instalasi Air Limbah Kesehatan Lingkungan, Rumah Sakit Dr. Pringadi Medan, Sumatera Utara.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain cawan Petri, Erlenmeyer, tabung reaksi, pipet volumetrik, botol sampel, timba, neraca, kamera, alat tulis, masker, sarung tangan dan inkubator.

Bahan yang digunakan antara lain limbah cair rumah sakit, media eosin metylen blue agar (EMBA), mannitol salt agar (MSA), salmonella shigella agar (SSA), tryptic soy agar (TSA), akuades, alkohol 70%, spiritus, kristal violet, safranin dan iodin.

3.3 Metode Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah deskriptif kualitatif dan kuantitatif dengan metode cawan gores dan cawan tuang. Penelitian dilaksanakan secara *in vitro* di laboratorium.

3.4 Sampel Penelitian

Sampel penelitian berupa limbah cair yang diperoleh dari Rumah Sakit Dr. Pringadi Medan. Limbah cair yang digunakan merupakan limbah cair outlet yaitu limbah yang sudah melalui proses pengolahan di kolam inlet dan kolam scraper.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat yang digunakan di dalam penelitian yang terbuat dari kaca di sterilkan di dalam oven dengan prinsip panas kering pada suhu 180°C selama 120 menit. Sedangkan alat yang tidak tahan panas disterilkan menggunakan autoclave dan alkohol 70%.

3.5.2 Persiapan Media Uji

3.5.2.1 Media EMBA

Media EMBA digunakan untuk mendeteksi keberadaan bakteri *Eschericia coli*. Ditimbang sebanyak 18,75 gram media EMBA, kemudian dimasukkan ke dalam erlemeyer dan dilarutkan dengan 500 ml akuades. Media dimasak di atas hot plate sampai mendidih. Kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm. Media yang sudah steril, disimpan di lemari es untuk digunakan pada tahapan berikutnya.

3.5.2.2 Media MSA

Media MSA digunakan untuk mendeteksi keberadaan bakteri *Staphylococcus aureus*. Ditimbang sebanyak 54 gram media MSA, kemudian dimasukkan ke dalam erlemeyer dan dilarutkan dengan 500 ml akuades. Media dimasak di atas hot plate sampai mendidih. Kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm. Media yang sudah steril, disimpan di lemari es untuk digunakan pada tahapan berikutnya.

3.5.2.3 Media SSA

Media SSA digunakan untuk mendeteksi keberadaan bakteri *Salmonella thypii*. Ditimbang sebanyak 20,4 gram media SSA, kemudian dimasukkan ke dalam

erlemeyer dan dilarutkan dengan 500 ml akuades. Media dimasak di atas hot plate sampai mendidih. Kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm. Media yang sudah steril, disimpan di lemari es untuk digunakan pada tahapan berikutnya.

3.5.2.4 Media TSA

Media TSA digunakan untuk mendeteksi keberadaan bakteri *Vibrio* sp. Ditimbang sebanyak 20 gram media TSA, kemudian dimasukkan ke dalam erlemeyer dan dilarutkan dengan 500 ml akuades. Media dimasak di atas hot plate sampai mendidih. Kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm. Media yang sudah steril, disimpan di lemari es untuk digunakan pada tahapan berikutnya.

3.5.3 Deteksi Keberadaan Bakteri Patogen dari Limbah Cair Rumah Sakit

Deteksi keberadaan bakteri patogen dari limbah cair rumah sakit dilakukan secara in vitro. Disiapkan masing – masing media uji untuk mendeteksi bakteri patogen yaitu media EMBA, MSA, SSA, dan TSA steril di dalam cawan Petri. Diambil sebanyak 1 ml sampel limbah cair dan diinokulasikan ke dalam media uji, kemudian diratakan dengan menggunakan kawat ose. Pengujian dilakukan dengan 3 kali ulangan. Cawan uji diinkubasi selama 24 jam. Dilakukan pengamatan terhadap karakteristik morfologi koloni bakteri yang tumbuh yaitu warna dan bentuk koloni bakteri. Disesuaikan dengan karakteristik bakteri patogen pada setiap media spesifik.

Bakteri *E. coli* akan menunjukkan koloni berwarna hijau metalik pada media EMBA. Bakteri *S. aureus* akan menghasilkan koloni dan zona halo berwarna kuning pada media MSA. Bakteri *Salmonella thypi* akan membentuk koloni

berwarna hitam pada media SSA. Sedangkan bakteri *Vibrio sp.* akan berwarna kuning pada media TCS.

3.5.4 Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis Bakteri Patogen

Karakteristik bakteri patogen diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis dengan melihat warna koloni pada media uji. Sedangkan pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan mengamati bentuk dan penataan sel dengan melakukan pewarnaan Gram.

Diambil sebanyak 1 ose bakteri, digoreskan pada permukaan gelas benda. Kemudian diberikan 2 tetes akuades. Dilakukan fiksasi di atas api Bunsen sampai mengering dan diperoleh preparate ulas. Selanjutnya diaplikasikan zat warna. Ditambahkan 2 tetes zat warna kristal violet di atas preparat ulas, didiamkan selama 60 detik. Dibilas dengan akuades. Kemudian ditambahkan 2 tetes iodine dan didiamkan selama 30 detik. Selanjutnya Kembali dibilas dengan aseton alcohol dan dilanjutkan pembilasan dengan akuades. Kemudian ditambahkan 2 tetes zat warna safranin didiamkan selama 60 detik. Dibilas dengan akuades. Preparat dikeringkan, dan diamati di bawah mikroskop.

3.5.5 Perhitungan Total Bakteri Pencemar pada Air Limbah

Penghitungan total bakteri pencemaran pada sampel air limbah dilakukan dengan metode angka lempeng total (ALT). Disiapkan media mueller hinton agar steril di dalam tabung reaksi (suhu media hangat $\pm 50^{\circ}\text{C}$). Sebanyak 1 ml sampel dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril. Kemudian campuran dihomogenkan dengan vortex. Diambil sebanyak 1 ml sampel dan diinokulasikan ke media MHA steril di dalam tabung reaksi. Dihomogenkan dengan vortex. Suspensi media dan

sampel diinokulasikan ke cawan Petri steril dengan metode cawan tuang.

Diinkubasi selama 24 jam. Dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh.

3.6 Analisis Data

Data penelitian yang diperoleh dianalisis secara deksriptif dengan menampilkan hasil penelitian di dalam tabel.



BAB V

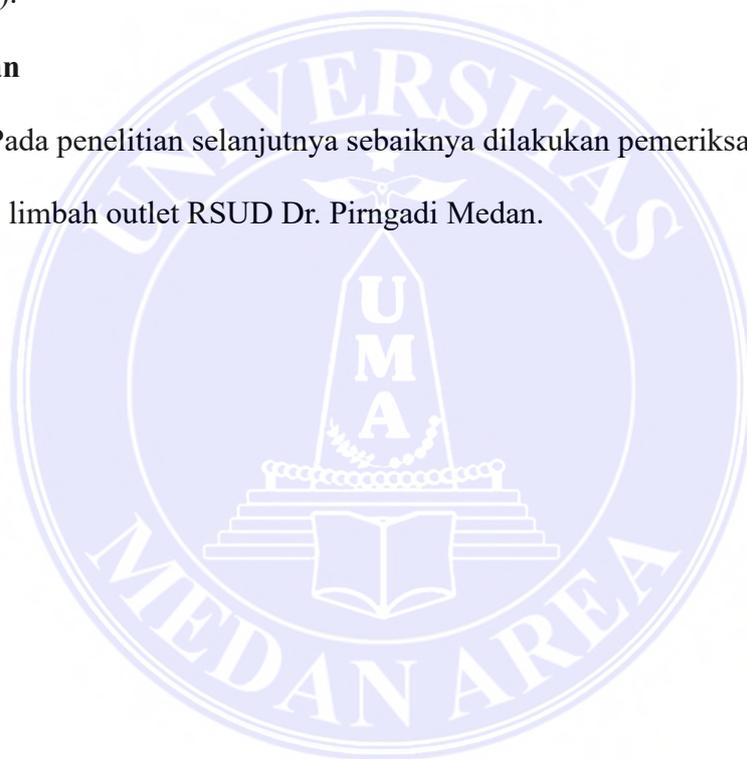
SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Simpulan dari penelitian ini adalah, ditemukan 3 jenis bakteri patogen dari sampel air limbah outlet RSUP Dr. Pirngadi Medan yaitu *Eschericia coli* (gram negatif), *Staphylococcus aureus* (gram positif) dan *Salmonella thypii* (gram negative).

5.2 Saran

Pada penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan pemeriksaan faktor kimia terhadap limbah outlet RSUD Dr. Pirngadi Medan.



DAFTAR PUSTAKA

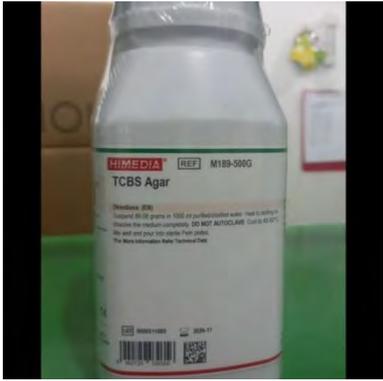
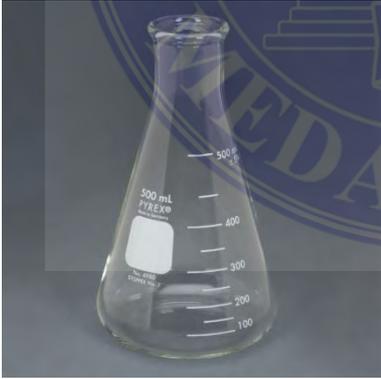
- Asmadi, Pengelolaan Limbah Medis Rumah Sakit, Yogyakarta: Gosyen Publishing, 2013.
- Astuti, A., & Purnama, S. (2014). Kajian Pengelolaan Limbah di Rumah Sakit Umum Provinsi Nusa Tenggara Barat (NTB). *Community Health*, 2(1), 12-20.
- Buntaa, M. V., Sondakh, R. C., & Umboh, J. M. (2019). Analisis Kualitas Air Limbah Rumah Sakit Bhayangkara Tingkat III Kota Manado. *KESMAS*, 8(4).
- Chan, W. T., Yeo, C. C., Sadowy, E., & Espinosa, M. (2014). Functional validation of putative toxin-antitoxin genes from the Gram-positive pathogen *Streptococcus pneumoniae*: phd-doc is the fourth bona-fide operon. *Frontiers in microbiology*, 5, 117538.
- De Verdier K, Nyman A, Greko C, Bengtsson B. 2012. Antimicrobial resistance and virulence factors in *Escherichia coli* from Swedish dairy calves. *Acta Veterinaria Scandinavica* 54(2): 1-10.
- Dewi, A. K. (2013). Isolasi, identifikasi dan uji sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap amoxicillin dari sampel susu kambing peranakan ettawa (PE) penderita mastitis di wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*, 31(2), 138-150.
- Habibi R. J. 2020. Studi Tentang Pengelolaan Limbah Medis Di Rumah Sakit Sahabat, Kabupaten Pasuruan. *Jurnal Mitra Manajemen*, vol. 4(9), pp. 1419- 1429.
- Levine, M (2018). ["Differentiation of *B. coli* and *B. aerogenes* on a simplified eosin-methylene blue agar"](https://doi.org/10.1086/infdis/23.1.43). *J Infect Dis.* 23: 43–47. doi:10.1086/infdis/23.1.43. diakses 11 Juli 2023
- Novitasari, L., Mahtuti, E. Y., & Basyarrudin, M. (2024). Isolasi dan Identifikasi Bakteri pada Limbah Handscoon Petugas Laboratorium di RSUD X. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 5(1), 1638-1645.
- Manning SD. 2010. Deadly Diseases and Epidemics: *Escherichia coli* Infection. New York: Chelsea Publishers. 135 – 138.
- Putra, F. (2019). *Efek Intracelullar Component (ICC) Streptococcus iniae Terhadap Perubahan Anatomi dan Mortalitas Ikan Kerapu Cantang Hybrida (Epinephelus sp.)* (Doctoral dissertation, Universitas Airlangga).

- Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 3. 2020. Klasifikasi dan Perizinan Rumah Sakit. Kementerian Kesehatan RI.
- Peraturan Menteri Lingkungan Hidup RI Nomor 7. 2014. Baku Mutu Air Limbah. Kementerian Lingkungan Hidup Republik Indonesia.
- Rahayu WP, Nurjanag S, Komalasari E. (2018). *Escherichia coli*. Patogenitas Analisis dan Kajian Resiko. IPB Press: Bogor.
- Rawis, L., Mangangka, I. R., & Legrans, R. R. (2022). Analisis Kinerja Instalansi Pengolahan Air Limbah (IPAL) di Rumah Sakit Bhayangkara Tingkat III Manado. *TEKNO*, 20(81).
- Rianti, E. D. D., Tania, P. O. A., & Listyawati, A. F. (2022). Kuat medan listrik AC dalam menghambat pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Bioma: Jurnal Ilmiah Biologi*, 11(1), 79-88.
- Setiarini, D, W dan Mangkoedihardjo, S. 2013. Penurunan BOD dan COD Pada Air Limbah Katering Menggunakan Konstruksi Subsurface-Flow Wetland dan Biofiter Dengan Tumbuhan Kana (*Canna indica*). *Jurnal Sains dan Seni Pomits* Vol. 2 No. 1.
- Trisno, K., Tono, K. P., & Suarjana, K. G. I. (2019). Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia Coli* dari Udara pada Rumah Potong Unggas Swasta di Kota Denpasar. *Indonesia Medicus Veterinus*, 8(5), 2477-6637.
- Winarti, C. (2020). Penurunan bakteri total coliform pada air limbah rumah sakit terhadap pengaruh lama waktu penyinaran dengan sinar ultra violet. *Jurnal Rekayasa Lingkungan*, 20(1).
- Wulandhani, S., Lohing, R., & Hasyim, A. (2023). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Indigen Yang Berpotensi Sebagai Agen Bioremediasi Dari Limbah Biomedis Cair. *Healthcaring: Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 2(2)
- Yang X & Wang H. 2014. Pathogenic *E. coli*. Lacombe Research Centre, Lacombe. Canada.
- Zahroh, A. P. 2019. *Uji Mikrobiologi Makanan Kantin Studi Kasus Pada Kantin Darmawanita Fakultas Kedokteran UIN Syarif Hidayatullah Jakarta* (Bachelor's thesis, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta-FK).

LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian

	
Kolam outlate (lokasi pengambilan sampel)	
	
Proses pengambilan sampel air limbah	Inkubasi cawan uji
	
Media deteksi <i>Escherichia coli</i> (EMBA)	Media deteksi <i>Salmonella thypii</i> (SSA)

	
Media deteksi <i>Vibrio</i> (TCBS)	Media deteksi <i>Staphylococcus aureus</i> (MSA)
	
Cawan Petri	Tabung Reaksi
	
Erlenmeyer	Kawat ose
	
Botol sampel	Pipet tetes

