

Gambaran Bakteri Gram Negatif Pada Limbah Cair Laboratorium Klinik STIKes Maharani Malang

Zahra Weny Sanjaya¹⁾, Erni Yohani Mahtuti²⁾, Siska Nanda Widhaningrum³⁾

¹⁾Prodi Teknologi Laboratorium Medis, STIKes Maharani Malang, Indonesia

²⁾STIKes Maharani Malang, Indonesia

³⁾STIKes Maharani Malang, Indonesia

*Correspondence Author: Erni Yohani Mahtuti, yohanierni@gmail.com, Malang, Indonesia

ABSTRAK

Dengan semakin berkembangnya institusi pendidikan terutama bidang kesehatan membuat kondisi limbah cair meningkat dari sifat fisik, kimia dan biologi. Suatu laboratorium idealnya mempunyai unit pengelolaan limbah cair, sehingga buangan yang dihasilkan aman bagi lingkungan. Limbah cair yang tidak dikelola dengan baik akan menghasilkan adanya perombakan yaitu bakteri patogen. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran bakteri gram negatif pada limbah cair Laboratorium Klinik STIKes Maharani. Jenis penelitian ini secara deskriptif kualitatif. Teknik pengambilan sampel menggunakan purposive sampling. Tahapan dalam penelitian ini meliputi pengambilan limbah cair sebanyak 250 ml, pembuatan isolasi koloni bakteri dengan media MCA, pembuatan biakan murni media agar miring MCA, pengamatan mikroskopis dan uji biokimia sesuai dengan *Bergey* manual. Bakteri ditumbuhkan pada MCA 2x24 jam. Hasil penelitian dengan pewarnaan gram menunjukkan bakteri gram negatif, bentuk batang, menyebar, berwarna merah. Uji biokimia menunjukkan glukosa (+), laktosa (-), manitol (-), maltosa (-), sukrosa (-), H₂S (+), indol (+), Mr (+), Vp (-), citrat(+), ditemukan spesies bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Saran penelitian ini adalah mengidentifikasi bakteri temuan pada limbah menggunakan media agar lainnya untuk mendapatkan bakteri selain gram negatif.

Kata kunci: Limbah cair laboratorium, Bakteri gram negatif

Abstract

*With the increasing development of educational institutions, especially in the health sector, the condition of liquid waste has improved in terms of physical, chemical and biological properties. A laboratory should ideally have a liquid waste management unit, so that the waste produced is safe for the environment. Liquid waste that is not managed properly will result in the formation of pathogenic bacteria. The aim of this research was to determine the description of gram-negative bacteria in liquid waste from the STIKes Maharani Clinical Laboratory. This type of research is descriptive qualitative. The sampling technique uses purposive sampling. The stages in this research include taking 250 ml of liquid waste, isolating bacterial colonies using MCA media, making pure cultures on MCA slant agar media, microscopic observations and biochemical tests according to the *Bergey* manual. Bacteria were grown on MCA 2x24 hours. The results of research using gram staining showed gram negative bacteria, rod shape, spread, red in color. Biochemical tests showed glucose (+), lactose (-), mannitol (-), maltose (-), sucrose (-), H₂S (+), indole (+), Mr (+), Vp (-), citrate (+), the bacterial species *Pseudomonas aeruginosa* was found. The suggestion for this research is to identify bacteria found in waste using other agar media to obtain bacteria other than gram negative.*

Keywords: Laboratory liquid waste, Gram negative bacteria.

PENDAHULUAN

Limbah cair di laboratorium menghasilkan bahan kimia yang digunakan selama penelitian tergantung pada aktivitas limbah yang dihasilkan dari kegiatan di laboratorium. Umumnya sejauh ini Indonesia hanya mengolah limbah cair secara sederhana dengan netralisasi dan akhirnya dibuang ke badan air. Suatu laboratorium idealnya mempunyai unit pengolahan limbah cair medis, sehingga dapat mengolah buangan limbah di lingkungan dengan aman. Limbah cair medis yang tidak dikelola dengan baik akan menghasilkan adanya kandungan bakteri patogen sehingga menjadi penyebaran penyakit bagi tenaga kesehatan, maupun masyarakat (Hardi, 2019).

Dalam bidang ilmu khususnya program *studi* Analis Kesehatan melaksanakan berbagai kegiatan praktikum mulai dari bidang *bakteriologi*, *parasitologi*, *hematologi*, *biokimia*, analisis makanan minuman dan dari kegiatan tersebut limbah banyak dihasilkan, sedangkan bahan pemeriksaan yang digunakan untuk pemeriksaan laboratorium berupa urin, darah, dahak, kerokan kulit, muntahan, sisa toksikologi makanan dan minuman (Mahtuti & Masyitoh, 2019).

Didasarkan pada penelitian sebelumnya oleh (Mahtuti & Masyitoh, 2019) tentang Isolasi dan Identifikasi Mikroba Berpotensi Pendegradasi Limbah Cair Laboratorium Kesehatan dijelaskan bahwa limbah cair terdiri dari bakteri *Pseudomonas stutzeri*, *Proteus mirabilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* tetapi belum diketahui lebih lanjut terkait adakah bakteri lainnya yang terdapat di dalam limbah cair tersebut dengan memastikan kembali bakteri berdasarkan temuan secara signifikan. Bakteri memerlukan bahan makanan berupa bahan organik dan anorganik yang diambil dari lingkungannya meliputi air, sumber karbon, nitrogen, dan mineral.

Disisi lain bakteri berdasarkan golongannya masuk dalam bakteri gram positif dan negatif. Tetapi bakteri dengan sifat patogen lebih berbahaya didapatkan pada bakteri gram negatif daripada gram positif karena bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang melindungi bakteri dari pertahanan inang setelah itu menghalangi masuknya antibiotik dengan memiliki kandungan senyawa toksin (Rahayu et al., 2019). Dalam menambah pengetahuan mengenai limbah cair, maka sangat penting mengetahui ada dan tidaknya bakteri gram negatif pada limbah cair laboratorium.

METODE PELAKSANAAN

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium STIKes Maharani pada bulan Februari 2023. Sampel dari penelitian ini menggunakan limbah cair Laboratorium sebanyak 250 ml. teknik dalam penelitian ini menggunakan purposive sampling, analisis data yang digunakan secara deskriptif dan penyajian data menggunakan tabel tabulasi dimana akan dikelompokkan berdasarkan uji yang telah dilakukan. Penelitian ini menggunakan alat yaitu autoclave, timbangan analitik, inkubator, bunsen, tabung durham, ose jarum, ose bulat, labu erlenmeyer 500ml, gelas ukur 1000 ml, tabung reaksi, rak tabung, rak pewarna, kawat kasa, beaker glass, cawan petri, kaki tiga, batang pengaduk, kapas steril, *aluminium foil*, pipet tetes, obyek glass, cover glass, botol kaca gelap, spuit selang 60 cc. Dengan menggunakan bahan aquadest, media *MCA*, media gula-gula, indol, Mr,Vp, citrat, *peptone water*, reagent *kovacs* indol, reagent methyl red, reagent *alfa naphthol*, indikator BTB, pewarnaan gram, limbah cair 250 ml. Tahapan penelitian ini meliputi pengambilan limbah cair, kemudian dilakukan pembuatan isolasi koloni bakteri dengan media *MCA*, pembuatan biakan murni media agar miring *MCA*, pengamatan mikroskopis dan uji biokimia sesuai *bergey* manual. Bakteri ditumbuhkan pada media *MCA* 2x24 jam.

HASIL & PEMBAHASAN

HASIL

Pada pertumbuhan bakteri yang dilakukan isolasi dari media agar *MCA* (*Mac Conkey Agar*). Dilakukan Inkubasi selama 2x24 jam. Memberikan hasil seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Pertumbuhan Koloni Bakteri Pada Media MCA (*Mac Conkey Agar*)

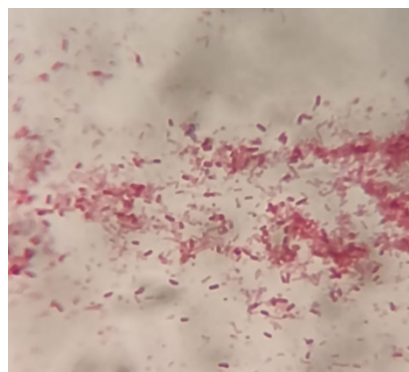
Ditemukan adanya koloni berbentuk bulat, tepi halus, elevasi tidak rata, berwarna putih. Pada tahap selanjutnya koloni pada media dilakukan isolasi ke media agar miring MCA untuk dijadikan biakan murni. Biakan murni digunakan untuk mengamati morfologi bakteri seperti pada gambar 2



Gambar 2. Isolasi Koloni Bakteri Pada Media Agar Miring

Tabel 1. Hasil Pewarnaan Gram

Sampel	Morfologi	Susunan	Warna	Gram
1	Batang	Menyebar	Merah	Negatif
2	Batang	Menyebar	Merah	Negatif



Gambar 3. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Pada Limbah Cair Laboratorium Perbesaran 1000x

Dari Tabel 1 dapat dilihat hasil pewarnaan gram bakteri limbah cair Laboratorium seperti pada gambar 3 diketahui hasil pewarnaan gram adalah bakteri gram negatif dengan morfologi batang, susunan menyebar menggunakan perbesaran 1000x.

Tabel 2 Hasil Uji Biokimia Bakteri Limbah Cair Laboratorium

Sampel	Glu	Lac	Man	Mal	Suc	H ₂ S	Ind	Mot	MR	VP	Cit	Spesies bakteri
1	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
2	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>



Gambar 4 Hasil Uji Biokimia Bakteri Limbah Cair Laboratorium

Selanjutnya dari hasil tabel 2 dapat dilihat pada gambar 4 hasil uji biokimia menunjukkan glukosa (+) positif berwarna kuning, sedangkan pada uji laktosa, mannitol, maltosa dan sukrosa (-) negatif tidak terjadi perubahan warna kuning, H₂S (+) positif pada indol, Mr (+) positif terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah, Vp (-) negatif tidak terjadi perubahan warna, citrat (+) positif terjadi perubahan dari hijau menjadi warna biru sehingga mengarah pada temuan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

PEMBAHASAN

Berdasarkan pertumbuhan koloni bakteri dengan menggunakan Media agar MCA (*Mac Conkey Agar*). Media MCA (*Mac Conkey Agar*) digunakan dalam menekan pertumbuhan bakteri gram positif serta dapat digunakan dalam identifikasi bakteri. Berdasarkan pemeriksaan pewarnaan gram dan uji biokimia, hasil dari pemeriksaan yang telah dilakukan di Laboratorium klinik Stikes Maharani menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Dalam uji biokimia bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan glukosa untuk membentuk asam, mengurai nitrat menjadi nitrit yang selanjutnya dipecah menjadi nitrogen gas, sehingga glukosa dikategorikan (+) positif setelah mengalami perubahan berwarna kuning, sedangkan pada uji laktosa, mannitol, maltosa dan sukrosa (-) negatif tidak terjadi perubahan berwarna kuning karena bakteri menghasilkan asam yang bereaksi dengan garam empedu, maka terjadinya pembentukan H₂S (+) positif pada media Indol menandakan bakteri mengubah asam amino alanine dalam pertumbuhannya, selanjutnya pada media MR (+) positif terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah dimana bakteri dapat memfermentasi glukosa dan menghasilkan produk bersifat asam, media VP (-) negatif ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna pada media (Suherman,D.P. 2022). Sedangkan dari media citrat menunjukkan hasil (+) positif karena terjadi perubahan warna pada media menjadi biru, uji citrat digunakan sebagai sumber karbon. Uji motil menandakan adanya kekeruhan di dalam media indol (Rahayu,2019).

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang yang dapat hidup di tanah, air sungai, air laut, air limbah dengan kemampuan menurunkan kadar fosfat yang terkandung dalam limbah cair rumah sakit dan memanfaatkan fosfat sebagai sumber nutrisi (Anna et al., 2019).Bakteri dalam limbah cair berdasarkan (Mahtuti & Masyitoh, 2019) terdapat bakteri *Pseudomonas stutzeri*, *Proteus mirabilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Di lain sisi penyebab hanya tumbuhnya bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam limbah cair karena bakteri ini mampu bertahan dan menekan pertumbuhan bakteri lainnya dengan menggunakan komposisi senyawa yang tidak bermanfaat tetapi bisa digunakan untuk metabolisme sehingga bakteri tersebut dapat membantu dalam mengolah limbah. Meskipun bakteri ini bersifat patogen tetapi jika kondisi lingkungan tidak sesuai, bakteri ini tetap memiliki potensi dalam mendegradasi limbah sehingga ketika limbah terbuang ke lingkungan, limbah ini sudah tidak berbahaya dan memberikan manfaat.

SIMPULAN

Ditemukan adanya bakteri gram negatif berbentuk batang, menyebar, berwarna merah. Sedangkan dari uji biokimia menggunakan uji glukosa, laktosa, mannitol, maltosa, sukrosa, indol, Mr, Vp, citrat dengan hasil uji pada glukosa (+) positif berwarna kuning, sedangkan pada uji laktosa, mannitol, maltosa dan sukrosa (-) negatif tidak terjadi perubahan warna kuning, H₂S (+) positif pada indol, Mr (+) positif terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah, Vp (-) negatif tidak terjadi perubahan warna, citrat (+) positif terjadi perubahan warna biru sehingga ditemukan adanya spesies bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Selanjutnya dapat mengidentifikasi bakteri temuan pada limbah menggunakan media agar lainnya untuk mendapatkan bakteri selain gram negatif.

REFERENSI

- Anna, K., Sławomir, M., Jabłoński, J., Milczewska, J., Sands, D., & Łukaszewicz, M. (2019). Metabolomic studies of *Pseudomonas aeruginosa*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(11), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2739-1>
- Arifin, Z., Gunam, I. B. W., Antara, N. S., & Yohanes Setiyo. (2019). Isolasi Bakteri Selulolitik Pendegradasi Selulosa Dari Kompos. *Isolasi Bakteri Selulolitik Pendegradasi Selulosa Dari Kompos, Vol. 7, No*(Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri Vol. 7, No.1, 30-37, Maret 2019 ISSN), 30–37.
- Aynuddin, A., & Rosalina, R. (2022). Pengolahan Logam Berat Kromium dalam Limbah Cair Laboratorium dengan Metode Koagulasi, Adsorpsi, dan Ozonasi. *Warta Akab*, 46(2), 13–17. <https://doi.org/10.55075/wa.v46i2.102>
- Bera, S. P. (2021). Microbial degradation of Procion Red by *Pseudomonas stutzeri*. *Scientific Reports*, 11(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82494-9>
- Diah, radini N. (2021). Simbiosis Bakteri Terhadap Limbah Cair Rumah Sakit. *Simbiosis Bakteri Terhadap Limbah Cair Rumah Sakit*, 44(Oseana, Volume 44, Nomor 2 Tahun 2019), 25–34.

- Djannatun, T. (2021). Teknik Firm Agar untuk Isolasi Bakteri Menjalar Firm Agar Technique for Isolation of Swarming Bacteria. *Teknik Firm Agar Untuk Isolasi Bakteri Menjalar Firm Agar Technique for Isolation of Swarming Bacteria*, 24(2), 121–141.
- Djatmikowati, T. F., Putra, H. H., & Firdaus, T. (2022). Review Literatur : Aspek Biorisiko dalam Penanganan Limbah Laboratorium Veteriner. *Review Literatur : Aspek Biorisiko Dalam Penanganan Limbah Laboratorium Veteriner*, 8–11(Limbah Medis Cair), 57–67.
- Mahtuti, E. Y., & Masyitoh, F. D. (2019). Isolasi dan Identifikasi Mikroba Berpotensi Pendegradasi Limbah Cair Laboratorium Kesehatan STIKes Maharani Malang. *Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 5(1), 38–44. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v5i1.227>
- Khusnuryani, A. (2008). Mikrobial sebagai Agen Penurun Fosfat Pada Pengolahan Limbah Cair Rumah Sakit. In *Seminar Nasional Aplikasi Sains dan Teknologi*. Yogyakarta.