

Gambaran pencemaran antibiotik pada sistem pembuangan limbah cair di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado

Anggyta Pradifita Kusuma*

Dina V. Rombot, Henry M. F. Palandeng[§]

Abstract

Background : Hospitals in Indonesia produce large amounts of waste water, this can be infectious, contain pathogenic microorganisms and chemicals that are harmful to health and the surrounding environment. Previous studies found antibiotics as one of the ingredients in hospital wastewater, and most of the microorganisms identified from wastewater were reported to be resistant to commonly used antibiotics.

Purpose : This study aims to determine the contamination of antibiotics in the wastewater system at RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado by doing isolation and bacteria and antibiotic sensitivity tests.

Methods: The type of research used is descriptive quantitative research. The sample used is wastewater from the inlet and outlet points. Isolation and bacteria were adjusted according to Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Sensitivity test using Kirby Bauer method with antibiotics used is clindamycin. The results are interpreted based on CLSI.

Results: The bacteria that were identified were *Bacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Escherichia spp.* and *Staphylococcus spp.*. These bacteria showed an interpretation of resistance to clindamycin, except for *Bacillus spp.* which could not be interpreted.

Conclusion: Based on the results of the study that the bacteria *Streptococcus spp.*, *Escherichia spp.* and *Staphylococcus spp.* which were found to be resistant in the sensitivity test, indicated the presence of antibiotic contamination in the wastewater at RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado.

Keywords: Hospital waste water, identification of bacteria, sensitivity test

Abstrak

Latar Belakang : Rumah sakit di Indonesia menghasilkan limbah cair dalam jumlah yang tidak sedikit, limbah cair ini dapat bersifat infeksius, mengandung mikroorganisme patogen serta bahan-bahan kimia beracun yang berbahaya bagi kesehatan maupun lingkungan sekitar. Studi terdahulu menemukan antibiotik sebagai salah satu kandungan yang terdapat dalam limbah cair rumah sakit, dan sebagian besar mikroorganisme yang berhasil diidentifikasi dari limbah cair ini dilaporkan resisten terhadap antibiotik yang umum digunakan.

Tujuan : Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pencemaran antibiotik pada sistem pembuangan limbah cair di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado dengan melakukan isolasi dan identifikasi bakteri serta uji sensitivitas antibiotik.

Metode : Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif kuantitatif. Sampel yang digunakan yaitu limbah cair dari titik inlet dan outlet. Isolasi dan identifikasi bakteri disesuaikan dengan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Uji sensitivitas menggunakan metode Kirby Bauer dengan antibiotik yang digunakan adalah cefixime, clindamycin dan ceftriaxone. Untuk hasilnya diinterpretasi berdasarkan CLSI.

Hasil : Bakteri yang berhasil diidentifikasi adalah *Bacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Escherichia spp.* dan *Staphylococcus spp.* Bakteri tersebut menunjukkan interpretasi resisten terhadap seluruh antibiotik, kecuali *Bacillus spp.* yang tidak dapat diinterpretasi.

Kesimpulan : Berdasarkan hasil penelitian bahwa bakteri *Streptococcus spp.*, *Escherichia spp.* dan *Staphylococcus spp.* yang ditemukan resisten pada uji sensitivitas, menunjukkan adanya antibiotik pada limbah cair di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado.

Kata kunci : Limbah cair rumah sakit, identifikasi bakteri, uji sensitivitas

Pendahuluan

Rumah sakit di Indonesia menghasilkan limbah dalam jumlah yang tidak sedikit, dimana limbah ini dapat berbahaya bagi kesehatan dan mencemari lingkungan. Hasil studi pengolahan limbah cair rumah sakit di Indonesia menunjukkan hanya 53,4% rumah sakit yang melaksanakan pengolahan limbah cair. Pemeriksaan kualitas limbah cair hanya dilakukan oleh 57,5% rumah sakit.¹

Diketahui bahwa RSUP Prof. Dr. R. D Kandou Manado telah memiliki Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL/WWTP (*Waste Water Treatment Plant*)). Instalasi ini berfungsi untuk membuang limbah biologis dan kimiawi dari air sehingga memungkinkan air tersebut dapat digunakan untuk keperluan yang lain. Hasil penelitian mengenai kualitas limbah cair dari IPAL pada rumah sakit ini hanya berhasil menghilangkan beberapa parameter berpengaruh dan tidak menunjukkan pengaruh signifikan terhadap penurunan jumlah bakteri.² Studi lainnya mendapatkan bahwa salah satu kandungan yang terdapat didalam limbah cair dari rumah sakit adalah antibiotik.³

Beberapa penelitian telah mendapati kandungan mikrobiologis limbah cair rumah sakit dan menemukan bakteri berbahaya yang sebanding dengan limbah rumah tangga. *Bacillus spp.*, *Staphylococcus spp.*, dan *Streptococcus spp.* adalah bakteri yang paling umum di limbah cair rumah sakit, terhitung antara 5% dan 10% dari semua kasus. *Escherichia coli* serta berbagai patogen nosokomial lainnya juga telah dilaporkan. Sebagian besar mikroba ini juga ditemukan resisten terhadap antibiotik yang digunakan secara rutin, yang mengakibatkan penyebaran berbagai penyakit dan infeksi.⁴ Studi yang dilakukan oleh *World Health Organization* (WHO) mengenai rasionalitas penggunaan antibiotik, menyatakan bahwa di Asia Tenggara antibiotik yang digunakan secara rasional yaitu kurang dari 40% pada rumah sakit pemerintah dan pada rumah sakit swasta yaitu kurang dari 30%. Indonesia sendiri diperkirakan dalam penggunaan obat-obatan antibiotik 30%-80% masih secara tidak rasional.⁵

Metode

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif kuantitatif. Penelitian dilakukan pada bulan November-Desember di sistem pembuangan limbah cair RSUP Prof. Dr, R. D. Kandou Manado pada titik inlet dan outlet. Dengan proses pengambilan sampel yang mengikuti Standar Nasional Indonesia tentang Air dan air limbah, dan kemudian sampel tersebut dibawa ke laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNSRAT.

Prosedur kerja dalam penelitian ini secara garis besar adalah melakukan isolasi dan identifikasi bakteri di media luria Bertani (LB), mengikuti acuan pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition* untuk mengidentifikasi isolat yang diperoleh dilakukan uji morfologi, fisiologi bakteri, dan biokimia. Setelah berhasil teridentifikasi dilanjutkan untuk uji resistensi terhadap antibiotik. Uji resistensi antibiotik ini menggunakan metode difusi cakram atau metode *Kirby Bauer*, dengan cara meletakkan cakram/disc yang berisi antibiotik pada media yang telah diinokulasi bakteri dan diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengukuran zona hambat yang terbentuk di sekitar disc secara horizontal dan vertikal. Hasil pengukuran disesuaikan dengan tabel *Clinical & Laboratory Standards Institute* ataupun sumber dan pedoman lainnya untuk melakukan interpretasi.

Hasil

Dari hasil isolasi dan identifikasi yang dilakukan berhasil didapati beberapa jenis bakteri yang terlampir pada Tabel 1 dan Tabel 2. Hasil identifikasi bakteri melalui uji morfologi, uji fisiologi bakteri dan uji biokimia dalam pada *inlet* limbah cair adalah bakteri *Bacillus spp.* dan *Streptococcus spp.* Sedangkan tiga spesies bakteri berbeda yang teridentifikasi dari *outlet* sistem pembuangan limbah cair yaitu *Escherichia spp.*, *Streptococcus spp.* dan *Staphylococcus spp.*

Setelah bakteri isolat berhasil diidentifikasi, dilanjutkan dengan uji sensitivitas terhadap antibiotik menggunakan metode difusi cakram atau metode *Kirby Bauer*. Dilakukan dengan cara menghitung zona hambat dari disc antibiotik

clindamycin. Hasil pengukuran dan interpretasi disajikan pada Tabel 3. yaitu antibiotik clindamycin terhadap *Streptococcus spp.* dan *Escherichia spp.* <15

mm, terhadap *Staphylococcus spp.* yaitu <14 mm dengan interpretasi masing-masing yaitu resisten.

Tabel 1. Hasil identifikasi bakteri dengan uji morfologi, uji fisiologi bakteri dan uji biokimia pada inlet limbah cair.

	Isolat			
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
Uji Morfologi				
Pewarnaan gram	+	+	+	+
Bentuk sel	Basil	Basil	Coccus	Basil
Uji Fisiologi & biokimia				
Motilitas	-	-	-	-
Indol	+	+	-	-
H ₂ S	-	+	-	-
Gas	+	+	+	+
Glukosa	+	+	+	+
Maltosa/laktosa	+	+	+	+
Lysine	+	+	+	+
Citrat	+	+	+	+
Katalase	+	-	-	+
Hasil identifikasi	<i>Bacillus spp.</i>	<i>Bacillus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	<i>Bacillus spp.</i>

Tabel 2. Hasil identifikasi bakteri dengan uji morfologi, uji fisiologi bakteri dan uji biokimia pada outlet limbah cair

	Isolat			
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
Uji Morfologi				
Pewarnaan gram	-	+	+	+
Bentuk sel	Basil	Coccus	Coccus	Coccus
Uji Fisiologi & biokimia				
Motilitas	-	+	-	-
Indol	-	-	-	-
H ₂ S	-	-	-	-
Gas	+	+	+	+
Glukosa	+	+	+	+
Maltosa/laktosa	+	-	+	+
Lysine	+	+	+	+
Citrat	-	+	+	+
Katalase	+	-	+	-
Hasil identifikasi	<i>Escherichia spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>

Diskusi

Bakteri teridentifikasi pada inlet limbah cair yang pertama adalah *Bacillus spp.* Merupakan bakteri gram yang dapat positif dan pada beberapa spesies dapat menjadi gram negatif. Memiliki hasil positif pada uji katalase, motilitas dan fermentasi karbohidrat. Kemudian bakteri *Streptococcus spp.* yang memiliki bentuk sel bulat atau ovoid, merupakan bakteri gram positif yang dapat memiliki motilitas pada beberapa strain walaupun

lebih sering didapati yang bersifat non-motil. Bakteri ini mampu memfermentasi karbohidrat atau glukosa sehingga pada media miring *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) menunjukkan perubahan warna pada bagian *butt*/dasar menjadi kuning, sedangkan bagian *slant*/miring tetap berwarna merah.

Tabel 3. Hasil pengukuran diameter zona hambat dan interpretasi dari uji sensitivitas antibiotik dengan metode difusi cakram Kirby Bauer

Antibiotik	Bakteri	Diameter Zona Hambat (mm)		Rata-rata	Interpretasi
		Ulangan			
		I	II		
Clindamycin (10 µg)	<i>Streptococcus spp.</i>	1	3	2	R
	<i>Escherichia spp.</i>	0,5	0	0,25	R
	<i>Staphylococcus spp.</i>	0	1	0,5	R
	<i>Staphylococcus spp.</i>	1	0,5	0,75	R
	<i>Streptococcus spp.</i>	0,5	0	0,25	R

Bakteri teridentifikasi dari *outlet* limbah cair yaitu *Escherichia spp.*, bakteri ini kurang menggunakan nitrat dalam sumber energi sehingga pada hasil penelitian didapati negatif terhadap uji sitrat. Bakteri selanjutnya yaitu *Staphylococcus spp.*, memiliki ciri-ciri bentuk sel yang bulat tunggal atau berpasang dalam tetrad dan kelompok yang tidak teratur. Merupakan bakteri gram positif dan non-motil. Kebanyakan strain menghasilkan acetoin dari glukosa dan mereduksi nitrat hingga memfermentasi berbagai karbohidrat. *Staphylococcus spp.* juga menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal dan ion ammonium sebagai satu-satunya sumber nitrogen. Sehingga pada media *Simmons Citrate Agar* adanya perubahan dari warna hijau menjadi biru, perubahan ini terjadi karena penggunaan sitrat akan menaikkan pH media.

Hasil penelitian Bakteri yang didapat pada penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan pada limbah cair dari *University of Benin Teaching Hospital* (UBTH) terdapat delapan isolat bakteri teridentifikasi termasuk *Bacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Escherichia spp.* dan *Staphylococcus spp.*⁶ Penelitian mengenai identifikasi bakteri pada limbah cair Rumah Sakit Sanglah di Bali juga menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia spp.* dan *Bacillus spp.* adalah bakteri yang berhasil ditemukan pada instalasi penganggulangan air limbah (IPAL) dari rumah sakit tersebut.⁷

Uji sensitivitas bakteri terhadap antibiotik clindamycin pada ketiga spesies *Streptococcus spp.*, *Escherichia spp.* dan *Staphylococcus spp.* menunjukkan hasil yang resisten. Sedangkan pada

bakteri *Bacillus spp.* tidak dapat ditentukan apakah bakteri tersebut menunjukkan sensitivitasnya terhadap antibiotik melalui metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode difusi cakram atau metode *Kirby Bauer*. Berdasarkan pernyataan dari *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI) mengenai beberapa kelompok organisme yang dikeluarkan dari tabel 2A-2J tentang *zone diameter dan MIC breakpoints*, dimana *Bacillus spp.* merupakan salah satunya. Dan kelompok organisme lain yang belum memiliki metode standar untuk menilai sensitivitas atau kerentanan terhadap antibiotik dikarenakan penelitian yang belum memadai agar mengembangkan standar definitif yang dapat direproduksi untuk menafsirkan hasil. Organisme ini mungkin membutuhkan media yang berbeda atau atmosfer inkubasi yang berbeda, atau mereka mungkin menunjukkan variasi regangan ke regangan yang nyata dalam laju pertumbuhan.⁸

Hasil dari uji sensitivitas bakteri terhadap antibiotik clindamycin di penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan pada Juni hingga Oktober tahun 2015 di limbah cair dari tiga rumah sakit berbeda di kota Afikpo Nigeria salah satunya adalah His Grace hospital yang menunjukkan bahwa bakteri *Staphylococcus spp.* dan *Escherichia spp.* resisten terhadap antibiotik clindamycin.⁹ Hasil penelitian yang sama terhadap strain *Staphylococcus spp.* yang diisolat dari limbah cair Imam Reza Hospital pada tahun 2020 di Iran.¹⁰

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan didapatkan kesimpulan bahwa bakteri yang berhasil diidentifikasi dari sampel limbah cair RSUP Prof. Dr.

RD Kandou Manado adalah *Bacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Escherichia spp.* dan *Staphylococcus spp.* Hasil uji sensitivitas antibiotik seluruh bakteri teridentifikasi kecuali *Bacillus spp.* yang tidak dapat ditentukan sensitivitasnya, menunjukkan interpretasi resisten terhadap clindamycin. Hasil tersebut menggambarkan adanya antibiotik yang terkandung pada sistem pembuangan limbah cair RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado.

Daftar Pustaka

1. Humaida R. Strategy To Handle Resistance of Antibiotics. *J Major*. 2014;3(7):115.
2. Palandeng H, Ottay R. Water Quality in Wastewater Treatment Plants Effluent at Central General Hospital. Prof. dr. RD Kandou Manado. *Int J Sci Res Publ*. 2021;11(3):384-7.
3. Barancheshme F, Munir M. Strategies to combat antibiotic resistance in the wastewater treatment plants. *Front Microbiol*. 2018;8(JAN).
4. Asfaw T. Review on hospital wastewater as a source of emerging drug resistance pathogens. *J Res Environ Sci Toxicol*. 2018;7(2).
5. Chonova T, Keck F, Labanowski J, Montuelle B, Rimet F, Bouchez A. Separate treatment of hospital and urban wastewaters: A real scale comparison of effluents and their effect on microbial communities. *Sci Total Environ* [Internet]. 2016;542:965-75. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.161>
6. Ekhaïse FO, Omavwoya BP. Influence of Hospital Wastewater Discharged from University of Benin Teaching Hospital (UBTH), Benin City on its Receiving Environment. *Am J Agric Environ Sci*. 2008;4(4):484-8.
7. Bagus I, Astawa B, Made N, Tarini A, Kunci K, Bakteri I, et al. Identifikasi Jenis Bakteri Dalam Air Limbah di Rumah Sakit Sanglah. *E-Jurnal Med*. 2017;6(6):1-4.
8. Clinical Laboratory Standards Institute. M100 Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Wayne P, editor. 28th ed. 2018;
9. Onuoha SC. Isolation and Characterization of Multi-drug Resistant Bacterial Pathogens from Hospital Effluents, South Eastern, Nigeria. *World Appl Sci J*. 2017;35(1):82-7.
10. Aky A, Chegenelorestani R, Shahvaisi-Zadeh J, Bozorgomid A. Antimicrobial resistance of staphylococcus aureus isolated from hospital wastewater in Kermanshah, Iran. *Risk Manag Healthc Policy*. 2020;13:1035-42.