

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Limbah Biomedis Puskesmas

1. Pengertian Limbah Biomedis Puskesmas

Beberapa Puskesmas di Indonesia terdiri dari fasilitas kesehatan seperti klinik jalan, rawat inap, laboratorium, ruang administrasi, ruang kefarmasian dan tempat penampung limbah (Kemenkes, 2014). Dari hasil kegiatan Puskesmas dihasilkan limbah medik.

Limbah medis menurut EPA/U.S *Environmental Protection Agency* (2011), merupakan suatu sisa atau bahan buangan yang dihasilkan dari kegiatan fasilitas pelayanan kesehatan, seperti Rumah Sakit, Klinik, Bank Darah, Praktek Dokter, fasilitas penelitian medis dan laboratorium. Di Indonesia, Puskesmas termasuk layanan kesehatan yang dimaksud menghasilkan limbah biomedis.

2. Klasifikasi Limbah Biomedis Puskesmas

a. Limbah biomedis padat

Limbah biomedis padat merupakan hasil dari kegiatan / produksi dari sarana layanan kesehatan yang sudah tidak terpakai lagi yang berbentuk padat (Pratiwi dan Maharani, 2013). Contoh limbah biomedis padat yaitu spuit, jarum, verban, botol infus, selang infus, botol kultur darah, *scalpel*, tabung vacuum darah, dan lain-lain (Asmarhany, 2014).

b. Limbah biomedis cair :

Limbah biomedis cair merupakan hasil dari kegiatan / produksi yang tidak terpakai lagi dan berbentuk semi cair maupun cair yang berasal dari pelayanan kesehatan. Contoh dari limbah biomedis cair yaitu reagen cair dan sampel laboratorium seperti : darah, urine, feses, sperma, sekresi vaginal, dahak, cairan otak (liquor cerebro spinalis), cairan pleura, cairan sinovial (cairan sendi), cairan perikardial, dan cairan peritoneal.

3. Dampak Limbah Biomedis Terhadap Lingkungan

Menurut WHO, 2018 pembuangan limbah biomedis yang tidak diolah dapat menimbulkan risiko kesehatan secara tidak langsung melalui pelepasan mikroorganisme patogen dan polutan beracun ke lingkungan.

1. Pembuangan limbah medis yang tidak diolah maka akan mengkontaminasi air minum, permukaan tanah, dan air tanah jika tempat pembuangan limbah tersebut tidak dibangun dengan benar
2. Penanganan limbah medis dengan disinfektan kimia dapat mengakibatkan pelepasan zat kimia ke lingkungan jika zat tersebut tidak diolah maka akan menimbulkan pencemaran lingkungan
3. Penggunaan Iniserator untuk menangani limbah biomedis dapat menghasilkan polutan ke udara dan pembentukan residu abu.hanya iniserator modern yang dilengkapi dengan peralatan pembersih gas khusus yang mampu mengolah kembali residu abu yang mengandung dioksin dan furan untuk sesuai standar emisi internasional.
4. Penanganan limbah biomedis dengan cara dibakar yang diolah dengan zat klorin dapat menghasilkan dioksin dan furan yang merupakan zat yang bersifat karsinogen.
5. Penggunaan autoklaf, microwave, pengolahan uap terintegrasi dengan pencampuran internal yang dapat meminimalkan pembentukan dan pelepasan bahan kimia atau emisi berbahaya harus dipertimbangan dalam pengaturan sesuai sumber daya untuk mengoperasikan dan memelihara sistem tersebut serta membuang limbah yang telah diolah.

4. Penanganan Limbah Biomedis Cair Menggunakan Sistem Bioremediasi

Bioremediasi merupakan penggunaan organisme (kebanyakan mikroorganisme) indigen untuk mengurangi polutan di lingkungan. Bakteri indigen adalah bakteri yang hidup dan berkembang biak dalam polutan tersebut. Saat bioremediasi terjadi, enzim – enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi polutan beracun dengan mengubah struktur kimia polutan. Peristiwa ini disebut biotransformasi. Pada banyak kasus, biotransformasi berujung pada biodegradasi. Saat polutan beracun terdegradasi, strukturnya menjadi tidak kompleks dan akhirnya menjadi metabolit yang tidak berbahaya dan

tidak beracun (Aguskrisno, 2011). Mikroorganisme yang ada di lingkungan tercemar akan memecahkan zat pencemar dengan proses biodegradasi dengan syarat lingkungan tersebut cocok untuk pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme tersebut (Verma dan Jaiswal, 2016). Keunggulan dari bioremediasi adalah hemat biaya dan ramah lingkungan dibandingkan dengan metode remediasi kimia dan fisik (Azubuike dkk., 2016).

Proses penghilangan polutan tergantung dari sifat polutan tersebut seperti : agrokimia, senyawa terklorinasi, zat warna, gas rumah kaca, logam berat, hidrokarbon, limbah nuklir, plastik dan limbah rumah tangga (Azubuike dkk., 2016). Teknik bioremediasi beragam berdasarkan sifat pencemar, kedalaman dan tingkat polusi, jenis lingkungan , lokasi, biaya dan kebijakan lingkungan merupakan beberapa kriteria pemilihan yang dipertimbangkan ketika memilih teknik bioremediasi (Frutos dkk., 2012; Smith dkk., 2015). Meskipun teknik bioremediasi beragam , sebagian besar studi tentang bioremediasi difokuskan pada hidrokarbon karena seringnya pencemaran tanah dan air tanah dengan jenis polutan tertentu (Frutos dkk., 2010; Sui dan Li, 2011; Kim dkk., 2014; Firmino dkk., 2015).

5. Isolasi Bakteri Hidrolitik Dari Limbah Biomedis Cair Sebagai Agen Bioremediasi

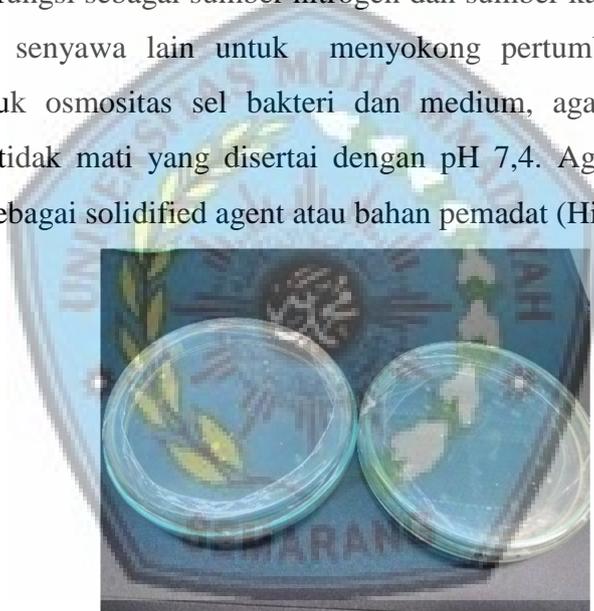
Bakteri hidrolitik merupakan suatu bakteri yang mempunyai kemampuan dalam mensekresi enzim hidrolitik untuk memecah komponen seperti polisakarida, protein, dan lemak (Zeikhus, 1980). Pada proses hidrolisis, senyawa polimer-polimer besar seperti karbohidrat, protein, dan lemak didekomposisi menjadi monomer yang larut dan dimer seperti monosakarida, asam amino dan asam lemak. Tingkat proses hidrolisis tergantung pada parameter seperti ukuran partikel, pH, produksi enzim, difusi, dan adsorpsi enzim pada partikel limbah yang mengalami dekomposisi (Shah dkk., 2014). Keragaman bakteri dalam limbah biomedis kemungkinan dapat untuk menemukan kelompok bakteri hidrolitik khususnya yang bersifat non patogen untuk menghasilkan berbagai enzim yang mampu mendegradasi limbah biomedis dari puskesmas. Pada bakteri hidrolitik yang bersifat non patogen dan dapat memetabolisme zat-zat organik

mempunyai peran penting dalam mempercepat proses degradasi sehingga akan mengurangi kemungkinan mikroorganisme patogen berkembang biak dan akan mengurangi bahaya infeksi dan kontaminasi akibat mikroorganisme patogen tersebut (Emmimol dkk., 2012).

B. Media Untuk Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Hidrolitik

1. Media Nutrient Agar

Media NA adalah media kultur yang digunakan untuk menumbuhkan dan membiakkan mikroorganisme. Kandungan dalam media NA antara lain Pepton, NaCl, HM peptone B, *Yeast extract*, *Agar*, dan pH 7,4 . Pepton, NaCl, dan HM peptone B berfungsi sebagai sumber nitrogen dan sumber karbon, sumber vitamin dan beberapa senyawa lain untuk menyokong pertumbuhan bakteri. NaCl berfungsi untuk osmositas sel bakteri dan medium, agar bakteri yang akan ditumbuhkan tidak mati yang disertai dengan pH 7,4. Agar ditambahkan pada medium NA sebagai solidified agent atau bahan pematat (Himedia, 2018).



Gambar 1. Koloni bakteri limbah biomedis cair dalam media NA.

(Sumber : Dokumentasi Pribadi)

2. Media McConkey Agar

Media McConkey (MC) merupakan media yang mengandung garam empedu (Bile Salts) dan Kristal Violet yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram-positif. Oleh karena itu, media tersebut bersifat selektif. Media MC juga media differensial yang dapat membedakan bakteri berdasarkan kemampuan memfermentasi laktosa (Leboffe dan Pierce, 2011). Koloni bakteri yang dapat memfermentasi laktosa akan berwarna pink sedangkan koloni bakteri yang tidak dapat memfermentasi laktosa akan berwarna kuning.



Gambar 2. Koloni bakteri laktosa fermenter berwarna merah muda, koloni bakteri non laktosa fermenter tetap berwarna kuning.

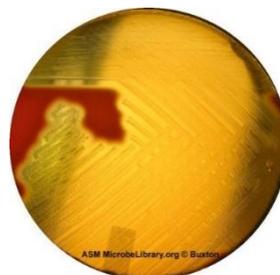
(Sumber : Aryal.,2018 . dalam : <https://microbiologyinfo.com>. 18 Oktober 2018)

3. Media Blood Agar Plate (BAP)

Media *blood Agar Plate* (BAP) merupakan media yang diperkaya (terdapat penambahan 5% (vol/vol) darah yang sering digunakan untuk pertumbuhan mikroorganismenya dan merupakan media differensial karena mampu membedakan bakteri berdasarkan menghemolisis sel darah merah. (Buxton, 2005). Media blood agar plate digunakan sebagai uji tingkat patogenitas berdasarkan sifat hemolitik yang dimiliki bakteri.

Untuk membaca reaksi hemolitik pada blood agar *plate*, *plate* harus diamati dengan cahaya yang berasal dari belakangnya (cahaya yang ditransmisikan) (Buxton, 2005).

1. Beta hemolisis (β) didefinisikan sebagai lisis sempurna atau mampu menghemolisis sel darah merah secara sempurna. Terdapat zona bening yang jelas mengelilingi koloni . Banyak spesies bakteri menghasilkan racun sebagai produk sampingan yang mampu menghancurkan sel darah merah.



Gambar 3.koloni bakteri dengan sifat β -hemolisa.

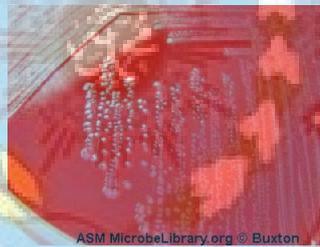
(Sumber: Buxton, 2005)

2. Alpha hemolysis (α) adalah reduksi hemoglobin sel darah merah menjadi methemoglobin dalam media yang mengelilingi koloni. Kondisi ini menyebabkan disekitar koloni terdapat warna hijau atau coklat dalam medium. Alpha hemolysis (α) disebut sebagai "hemolisis parsial," karena dapat menghancurkan sebagian sel darah merah.



Gambar 4. Koloni bakteri dengan sifat α -hemolisa.
(Sumber : Buxton, 2005)

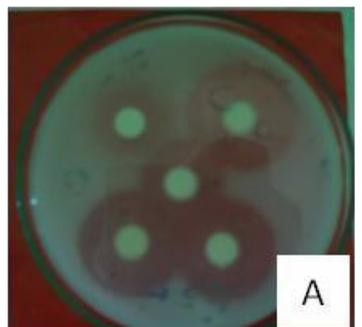
3. Gamma hemolysis (γ) didefinisikan sebagai bakteri yang tidak dapat menghidrolisis sel darah merah. Koloni berwarna putih dan tidak terjadi perubahan media di sekitar koloni.



Gambar 5. Koloni bakteri dengan sifat γ -hemolisa.
(Sumber: Buxton, 2005)

4. Media Susu Skim Agar (SMA)

Media SMA merupakan media yang dapat menumbuhkan dan menyeleksi bakteri hidrolitik berdasarkan proses koagulasi dan proteolisis dari kasein. Bakteri proteolitik menghidrolisis kasein untuk membentuk senyawa nitrogen terlarut yang diindikasikan sebagai zona bening di sekitar koloni. Zona yang lebih jelas terlihat pada media jika bakteri menghasilkan asam dari karbohidrat yang didapat dari hasil fermentasi pada media (Himedia, 2018).



Gambar 6. Hasil pengujian aktifitas bakteri proteolitik terdapat zona bening di sekitar koloni.

(Sumber: Setyati dan Subagiyo, 2012)

5. Media Tributirin Agar

Media selektif untuk menumbuhkan dan menyeleksi bakteri penghasil enzim lipase dalam mendegradasi lemak menggunakan media agar tributirin. (Ankit, Yaginik, Pranali dan Yadav, 2011; Prasad dan Manjunath, 2011; Sirisha, Rajasekar, dan Narasu, 2010). Tributyrin adalah trigliserida yang paling sederhana yang terdapat pada lemak dan minyak alami. Degradasi *tributirin* oleh suatu mikroorganisme diindikasikan oleh zona bening di sekitar koloni bakteri lipolitik pada media kultur. Zona bening tersebut karena bakteri lipolitik dapat mengubah lemak menjadi asam butyric larut air (Himedia, 2015).



Gambar 7. hasil pengujian aktifitas bakteri lipolitik terdapat zona bening di sekitar koloni.

(Sumber : Setyati dan Subagiyo, 2012)

C. Pengecatan Gram

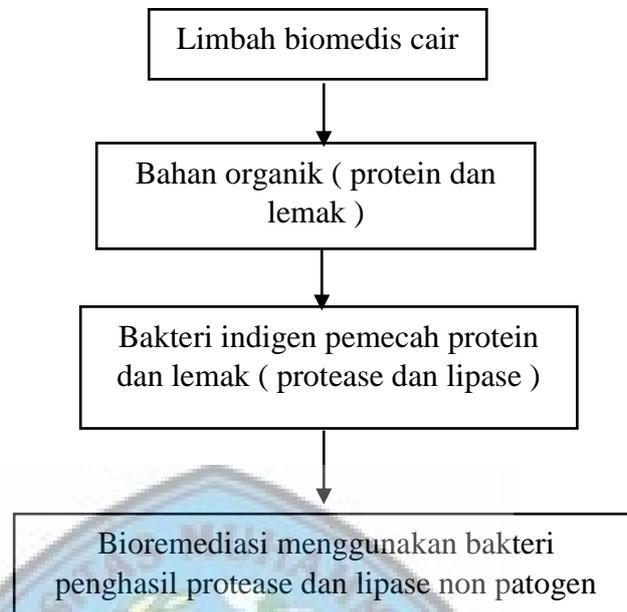
Pengecatan Gram merupakan pengecatan diferensial yang sering digunakan dalam bakteriologi (Madigan dkk., 2012). Pengecatan Gram merupakan pengecatan diferensial yang dikembangkan oleh seorang fisikawan Denmark Christian Gram (1853 – 1938). Pengecatan Gram membagi bakteri berdasarkan kelompok Gram-positif dan Gram-negatif (Willey, dkk., 2009).

Prosedur pengecatan gram terdiri dari 3 langkah (Willey dkk., 2009; Prescott dan Harley, 2002):

1. Pengecatan menggunakan cat utama (primary stain) yaitu kristal violet pada Gram A.
2. Pemberian Gram B (asam iodin) sebagai mordant yang berfungsi untuk meningkatkan interaksi antara cat dan sel bakteri sehingga cat akan terikat lebih kuat dengan bakteri.
3. Pemberian Gram C (etanol 95%) sebagai decolorizer. Tujuannya adalah menghilangkan warna cat utama pada bakteri Gram-negatif, namun pada bakteri Gram-positif akan tetap mempertahankan warna dari kompleks kristal violet dan asam iodin.
4. Pemberian Gram D (safranin) sebagai counterstain. Pada bakteri Gram-negatif, safranin akan memberikan warna merah muda karena kehilangan warna cat primer pada saat dekolorisasi dan pada bakteri Gram-positif akan tetap berwarna ungu.

Penyebab dari perbedaan warna hasil pengecatan Gram adalah perbedaan dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri Gram-positif memiliki peptidoglikan lebih tebal dan asam teikoik yang menempel pada dinding sel yang akan bereaksi dengan kristal violet dan iodin membentuk kompleks yang lebih kuat dibandingkan dengan dinding sel bakteri Gram-negatif. Pada dinding bakteri Gram-negatif memiliki peptidoglikan yang lebih tipis dan tidak memiliki asam teikoik tetapi pada bakteri Gram-negatif memiliki membran luar (outer membran) yang terdiri dari lipoporisakarida. Peptidoglikan yang tipis dapat membentuk kompleks yang kuat dengan kristal violet-iodin yang berakibat pada proses dekolorisasi lipid pada lapisan luar akan larut dan menyebabkan warna dari cat utama larut sehingga dinding bakteri Gram-negatif dapat terwarnai oleh cat pembanding (Pollack dkk., 2009 ; Madigan dkk., 2012).

D. Kerangka Teori



Gambar 8. Skema kerangka teori

E. Hipotesis

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah terdapat bakteri indigen non patogen penghasil enzim protease dan lipase yang berpotensi sebagai agen bioremediasi.