

SEBARAN BAKTERI DAN PROFIL RESISTENSI ANTIBIOTIK *Enterobacter sp* PADA SALURAN PEMBUANGAN AIR DI SALAH SATU RUMAH SAKIT TIPE C MALANG

Wira Bagus Wasistha, Citra Destya Rahma Putri, Raden Muhammad Hardadi Airlangga*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Rumah sakit merupakan salah satu tempat yang dapat menimbulkan risiko penularan penyakit dan pencemaran lingkungan melalui limbah air rumah sakit, seperti limbah cair, limbah padat, dan B3 (Bahan Berbahaya dan Beracun). Diselenggarakannya IPAL merupakan upaya pelayanan kesehatan untuk mengurangi pencemaran lingkungan dan menjaga kesehatan masyarakat. Air limbah rumah sakit mengandung mikroorganisme patogen salah satunya *Enterobacter sp*. Berdasarkan uraian tersebut, maka dari itu diperlukan penelitian untuk menganalisis sebaran profil bakteri dan profil resistensi bakteri *Enterobacter sp* pada limbah air rumah sakit sebagai salah satu cara untuk mencegah dan mengurangi terjadinya infeksi yang disebabkan oleh *Enterobacter sp*. Penelitian ini termasuk pada jenis studi eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *in vitro*. Penelitian dilakukan dengan melakukan kultur bakteri yang berasal dari sampel air dan dilakukan uji resistensi terhadap antibiotik melalui metode Kirby-Bauer. Didapatkan hasil menunjukkan bahwa sampel limbah air rumah sakit pre-IPAL mengandung bakteri *Enterobacter sp* dengan rata-rata sebesar $2,39 \times 10^5$ CFU/mL. Sedangkan pada sampel limbah air post-IPAL mengandung bakteri *Enterobacter sp* dengan rata-rata $1,4 \times 10^3$ CFU/mL. Bakteri *Enterobacter sp* yang telah diisolasi dari kedua jenis sampel didapatkan tingkat resistensi yang tinggi terhadap antibiotik Ampicillin, Ciprofloxacin, Gentamicin, dan Meropenem. Pada penelitian ini didapatkan bakteri *Enterobacter sp* pada limbah air salah satu Rumah Sakit Tipe C Malang baik dari sebelum memasuki IPAL maupun sesudah memasuki IPAL. Koloni *Enterobacter sp* yang didapatkan pada limbah air salah satu Rumah Sakit Tipe C Malang didapatkan Sebagian besar masih bersifat *susceptible* terhadap antibiotik kecuali pada Ampicillin yang menunjukkan hasil *resistant*.

Kata Kunci – Limbah air rumah sakit, *Enterobacter sp*, tingkat resistensi terhadap antibiotik.

*Penulis Korespondensi:

dr. H. R. Muh Hardadi Airlangga, Sp.PD
Jl. MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

DISTRIBUTION OF BACTERIA AND ANTIBIOTIC RESISTANCE PROFILE *Enterobacter sp* IN THE WASTEWATER IN ONE OF THE TYPE C HOSPITAL IN MALANG

Wira Bagus Wasistha, Citra Destya Rahma Putri, Raden Muhammad Hardadi Airlangga*
Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Hospitals are one of the places that can pose a risk of disease transmission and environmental pollution through hospital water waste, such as liquid waste, solid waste, and B3 (Hazardous and Toxic Substances). The implementation of IPAL is a health service effort to reduce environmental pollution and maintain public health. Hospital wastewater contains pathogenic microorganisms, one of which is *Enterobacter sp*. Based on this description, research is needed to analyze the distribution of bacterial profiles and resistance profiles of *Enterobacter sp* bacteria in hospital waste water as a way to prevent and reduce the occurrence of infections caused by *Enterobacter sp*. This research is a type of laboratory experimental study with an *in vitro* research design. The research was carried out by culturing bacteria from water samples and testing antibiotic resistance using the Kirby-Bauer method. The result obtained showed that pre-IPAL hospital wastewater samples contained *Enterobacter sp* bacteria with an average of $2,39 \times 10^5$ CFU/mL. Meanwhile, post-IPAL wastewater samples contained *Enterobacter sp* bacteria with average $1,4 \times 10^3$ CFU/mL. *Enterobacter sp* bacteria that were isolated from both types of samples showed high levels of resistance to the antibiotics Ampicillin, Ciprofloxacin, Gentamicin, and Meropenem. In this study, *Enterobacter sp* bacteria were found in wastewater from in one of the Type C Hospital in Malang, both before entering the IPAL and after entering the IPAL. *Enterobacter sp* colonies found in the wastewater in one of the Type C Hospital in Malang were found to be mostly still susceptible to antibiotics except for Ampicillin which showed resistant result.

Keywords – Hospital wastewater, *Enterobacter sp*, level of resistance to antibiotics

*Corresponding Author:

Dr. H. R. Muh Hardadi Airlangga, Sp.PD
Jl. MT. Haryono 193 Malang, East Java, Indonesia, 65144

PENDAHULUAN

Rumah sakit mempunyai kontribusi terhadap pelayanan kesehatan yang berkelanjutan menggunakan fasilitas teknologi kesehatan yang berfungsi untuk membantu dalam diagnosis dan tatalaksana [1]. Namun, hal ini dapat menimbulkan limbah dari rumah sakit dalam jumlah yang besar berupa limbah cair, limbah padat, dan B3 (Bahan Berbahaya dan Beracun) [2]. Selain itu, juga dapat menimbulkan limbah biomedis dalam jumlah yang besar [3]. Kuantitas air limbah rumah sakit yang dihasilkan tergantung pada ukuran rumah sakit, layanan, dan fasilitas yang diberikan serta pengelolaan limbah yang dilakukan [4]. Limbah air rumah sakit dapat dikelola menggunakan IPAL dengan ditargetkan pada kontaminasi spesifik limbah air rumah sakit, penghilangan bahan organik, patogen dan EC (*emerging contaminants*).

Penanganan penyaluran air limbah rumah sakit di Indonesia sudah diatur dalam Peraturan Menteri Kesehatan nomor 40 tahun 2022 tentang persyaratan teknis bangunan, prasarana, dan peralatan kesehatan rumah sakit. Standar prasarana air limbah rumah sakit meliputi kapasitas air limbah dan perkiraan perhitungan minimal kapasitas sistem pengelolaan air limbah cair di rumah sakit. Selanjutnya yaitu distribusi, keandalan penyaluran terdiri dari Pompa Sewage dan Jaringan Distribusi/Pipa. Lalu semua air buangan air yang dihasilkan dari kegiatan rumah sakit dialirkan ke Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) [5].

Efektivitas IPAL (Instalasi Pengolahan Air Limbah) sangat penting dalam mengatasi masalah limbah yang terus berlanjut di berbagai sektor industri. IPAL dapat membantu mengurangi pencemaran lingkungan dan menjaga kesehatan masyarakat. Namun, masih banyak yang perlu ditingkatkan untuk sanitasi di Indonesia, tercatat bahwa sanitasi layak di Indonesia pada tahun 2018 hanya mencapai 74,58%, dan sanitasi aman hanya mencapai 7,42% [6]. Setelah mengalami serangkaian pengolahan limbah air pada rumah sakit, limbah air pada rumah sakit biasanya akan disalurkan ke jaringan saluran bersama limbah air yang berasal dari limbah pemukiman masyarakat yang akan dilakukan pengelolaan lebih lanjut. Hal-hal yang dipertimbangkan dalam

penyaluran air limbah adalah meniadakan sistem bidang rembesan untuk meningkatkan perbaikan kualitas tanah dan air di lingkungan rumah sakit, menghindari adanya pertemuan antar pipa air bersih dan air kotor, dan menghindari seringnya pengurasan tangki septik [7].

Air limbah rumah sakit adalah salah satu sumber pencemaran yang berbahaya. Hal ini dikarenakan limbah cair rumah sakit mengandung senyawa organik, mengandung mikroorganisme patogen salah satunya *Enterobacter sp.* Air limbah yang mengalami stagnansi dan saluran pembuangan merupakan reservoir bakteri Gram negatif yang resisten terhadap berbagai obat di lingkungan rumah sakit. Sebagian besar *Enterobacter sp* dapat menyebabkan infeksi nosokomial [8]. Prosedur invasif, penggunaan antibiotik sebelumnya, dan penggunaan kortikosteroid merupakan predisposisi terjadinya bakteremia *Enterobacter*. Hal ini meningkatkan angka kematian pada pasien yang rentan dan pasien dengan infeksi yang parah. Untuk resistensi terhadap antibiotik tidak berpengaruh terhadap hasilnya [9]. *Enterobacter sp* banyak menggunakan golongan Aminoglikosida, Fluoroquinolon, Cephalosporin, dan Penicillin. Aminoglikosida seperti Gentamicin dan Amikasin yang bekerja dengan cara menghambat sintesis protein pada bakteri, Cefalosporin seperti Ceftazidime, Ceftriaxone, dan Ceftazime yang bekerja dengan cara menghambat pembentukan dinding sel pada bakteri. Fluoroquinolon seperti Ciprofloxacin yang bekerja dengan cara menghambat kerja enzim DNA gyrase pada bakteri [10].

Kegiatan Kesehatan di salah satu Rumah Sakit Tipe C Malang tentunya menghasilkan limbah yang dapat membahayakan lingkungan, salah satu limbah yang dihasilkan dari kegiatan pada salah satu Rumah Sakit Tipe C Malang adalah limbah cair. Dimana limbah cair tersebut diolah pada suatu Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL).

Berdasarkan uraian tersebut, maka dari itu diperlukan penelitian untuk menganalisis sebaran profil bakteri dan profil resistensi bakteri *Enterobacter sp* pada limbah air pada salah satu Rumah Sakit Tipe C Malang sebagai salah satu cara untuk mencegah dan

mengurangi terjadinya infeksi yang disebabkan oleh *Enterobacter sp.*

METODE PENELITIAN

Desain, tempat, dan waktu penelitian

Penelitian ini termasuk pada jenis studi eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *in vitro*. Penelitian dilakukan dengan melakukan kultur bakteri yang berasal dari sampel air dan dilakukan uji resistensi terhadap antibiotik melalui metode *Kirby-Bauer* [11]. Pengambilan data sampel dilakukan di salah satu Rumah Sakit Tipe C Malang Pengujian sampel dan analisis data dilaksanakan di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran Universitas Islam Malang. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan Februari 2024 hingga April 2024 dengan nomor izin penelitian No.12/KEPK/RSIU-U/II/2024.

Sampel dan populasi penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah air salah satu Rumah Sakit Tipe C Malang yang diambil pada dua titik yaitu sebelum melewati IPAL (Ground Tank) dan sesudah melewati IPAL (Bak Indikator). Sementara populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah koloni bakteri *Enterobacter sp* yang didapatkan melalui limbah air rumah sakit.

Kultur bakteri dari sampel limbah air

Kultur bakteri *Enterobacter sp* dilakukan dengan menggunakan berbagai media berupa, *McConkey*, *Mueller Hinton Agar* (MHA), dan *CHROMagar Coliform Chromogenic Agar* (CCA). Sampel yang didapatkan di awal akan dilakukan dilusi dengan kekuatan 1, 1/10, dan 1/100 pada masing-masing sampel. Setelah itu sampel akan dikultur dalam media *CHROMagar* dan dilakukan sub-kultur pada media *McConkey* dan *Mueleler Hinton Agar* untuk kemudian dilakukan uji sensitivitas terhadap antibiotik.

Koloni yang didapatkan pada media *CHROMagar* akan dihitung dengan menggunakan *Slovin Formula* untuk menentukan jumlah koloni yang digunakan untuk uji sensitivitas antibiotik dengan menggunakan metode *Kirby-Bauer*. Pada penelitian ini didapatkan hasil koloni yang

digunakan untuk uji sensitivitas sebesar 25 koloni pada masing-masing sampel.

Perhitungan populasi yang digunakan dalam Uji Sensitivitas Antibiotik

Perhitungan jumlah sampel dilakukan dengan Slovin Formula dengan rumus:

$$n = \frac{N}{1 + (N \times E^2)}$$

Dimana n adalah jumlah sampel yang digunakan, N adalah populasi koloni bakteri yang didapatkan dan dinyatakan valid (30 hingga 300 koloni), dan E adalah tingkatan kesalahan/error sebesar 20%.

Perhitungan Perkiraan Koloni Bakteri pada Sampel Limbah Air

Koloni yang didapat juga dihitung menggunakan rumus sebagai berikut untuk menentukan perkiraan jumlah koloni per mililiter air :

$$n \text{ (CFU/mL)} = \frac{\sum \text{Koloni}}{\text{Kekuatan Pengenceran (L)} \times \text{Volume yang digunakan untuk Kultur}}$$

Uji Determinasi *Enterobacter sp* dengan Menggunakan Pewarnaan Gram

Langkah pertama *Object glass* dipanaskan diatas Bunsen. Setelah itu didinginkan dengan suhu ruang, lalu *Object glass* ditetaskan *saline* steril. Koloni yang didapatkan pada media *Mueller Hinton Agar* selanjutnya diambil menggunakan jarum ose yang telah dipanaskan dan dicampurkan pada *saline* steril yang telah ditetaskan pada *object glass*. *Object glass* kemudian dikeringkan dengan menggunakan cara didinginkan pada suhu ruang. Setelah kering, *object glass* dipanaskan diatas api bunsen untuk difiksasi. Setelah itu, *object glass* ditetesi dengan reagen *Crystal violet* dan didiamkan selama 1 menit. *Object glass* kemudian dipanaskan diatas api bunsen, dan setelah itu dialirkan aquades. Selanjutnya, *object glass* diberi tetesan reagen *iodine* dan didiamkan selama 1 menit. *Object glass* kemudian kembali dibilas menggunakan aquades dan dilanjutkan dengan pemberian reagen Safranin dan didiamkan selama 30 detik. Setelah itu, *object glass* dialirkan aquades hingga warna yang didapatkan pada *object glass* hilang. Setelah itu *object glass* dikeringkan dan diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 1000x menggunakan bantuan minyak emersi. Koloni

bakteri gram positif akan berwarna keunguan, sementara koloni bakteri gram negatif akan berwarna kemerahan [12].

Uji Sensitivitas Antibiotik *Enterobacter sp*

Koloni yang tumbuh pada media *McConkey* diambil sebanyak 4-5 koloni untuk dilarutkan dalam saline steril dan membentuk inokulum. Inokulum yang terbentuk kemudian distandarisasi menggunakan *McFarland Standard* sebelum dilakukan sub-kultur pada media MHA. Setelah inokulum siap, maka dilakukan sub-kultur koloni pada media MHA dan diletakkan cakram antibiotik yang berbeda pada masing-masing media. Antibiotik yang digunakan adalah Ampicilin, Gentamicin, Meropenem, dan Ciprofloxacin. Peletakan cakram antibiotik dilakukan dengan memberi jarak sebesar 30 mm dan jumlah yang diletakkan dalam cawan petri mengikuti ukuran cawan petri (diameter cawan petri 90 mm maksimal 5 cakram; diameter cawan petri 150 mm maksimal 12 cakram)[11], [13], [14]. Hasil interpretasi pada uji sensitivitas terdapat pada tabel 1.

Tabel 1 Standar Tingkat Sensitivitas Antibiotik *Enterobacter sp*

Antimicrobial Agent	S	I	R
Ampicilin	≥17 mm	14-16 mm	≤13 mm
Meropenem	≥23 mm	20-22 mm	≤19 mm
Gentamicin	≥18 mm	15-17 mm	≤14 mm
Ciprofloxacin	≥31 mm	21-30 mm	≤20 mm

Keterangan S menunjukkan *Susceptible*, I menunjukkan *Intermediate*, dan R menunjukkan *Resistant*.

Perhitungan Efektivitas Eliminasi bakteri *Enterobacter sp* pada Sistem Pengolahan Limbah Air Rumah Sakit

Efektivitas sistem IPAL dalam mengeliminasi bakteri *Enterobacter sp* dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$X = \frac{\text{Rerata Bakteri pre IPAL} - \text{Rerata Bakteri Post IPAL}}{\text{Rerata Bakteri Pre IPAL}} \times 100$$

Keterangan X adalah efektivitas sistem IPAL dalam mengeliminasi bakteri

Metode Analisa Data

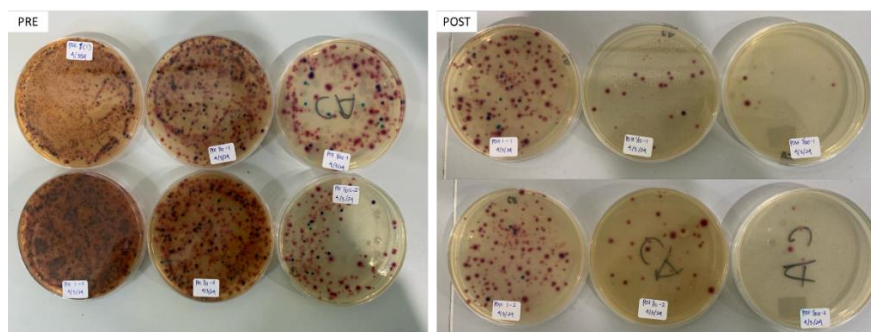
Pada penelitian ini Analisa data dilakukan menggunakan *IBM SPSS software for windows*. Data yang sudah didapat dilakukan T Test lalu dilakukan uji normalitas dan homogenitasnya, kemudian setelah dinyatakan normal dan homogen dilakukan pengujian kembali menggunakan metode statistik parametrik berupa *One Way ANOVA* Jika data yang didapat tidak memenuhi normalitas dan homogenitas, maka dilakukan menggunakan *Mann Whitney U Test*. Analisa profil sensitivitas antibiotik menggunakan analisa deskriptif.

HASIL DAN ANALISA DATA

Kultur dan Perhitungan Koloni bakteri *Enterobacter sp*

Hasil kultur dan perhitungan koloni yang didapat pada media *CHROMagar CCA* akan ditransformasikan dalam bentuk CFU/ml untuk memperkirakan jumlah koloni dalam limbah air. Data yang didapat kemudian kembali ditransformasikan dalam bentuk Login. Data yang didapatkan dianalisa menggunakan *One Way Anova* dengan hasil signifikansi (p) yang didapat sebesar 0,000.

Gambar 1 Hasil kultur sampel Pre-IPAL & Post-IPAL



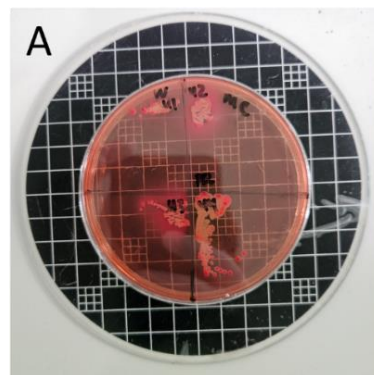
Keterangan gambar sebelah kiri menunjukkan hasil kultur sampel Pre-IPAL dan gambar sebelah kanan menunjukkan hasil kultur sampel Post-IPAL menggunakan media *CHROMagar*.

Tabel Perhitungan Jumlah Koloni *Enterobacter sp*

Sampel: Limbah Pre-IPAL						Rata-rata Koloni Pre-IPAL (CFU/ml)
DILUSI	U-1	U-2	U-3	U-4	U-5	U-6
1	>300	>300	>300	>300	>300	>300
0,1 (1/10)	>300	>300	>300	>300	>300	>300
0,01 (1/100)	212	211	280	286	239	208
						239.334
Sampel: Limbah Post-IPAL						Rata-rata Koloni Post-IPAL (CFU/ml)
DILUSI	U-1	U-2	U-3	U-4	U-5	U-6
1	137	194	127	130	140	128
0,1 (1/10)	26	35	22	19	21	20
0,01 (1/100)	5	5	7	3	4	2

Keterangan: U menunjukkan Ulangan, Jika Koloni >300: tidak perlu dihitung (TMTc: too much to count)

Gambar 2 Hasil Media McConkey

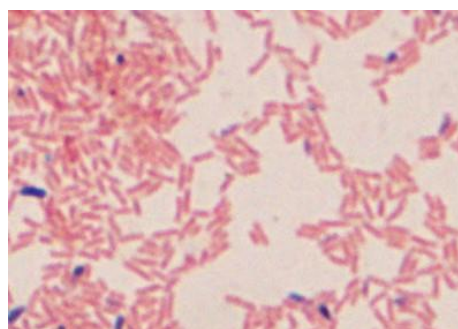


Keterangan A menunjukkan hasil McConkey untuk bakteri *Enterobacter sp* yang menunjukkan *lactose fermenting* positif.

Hasil Uji Determinasi *Enterobacter sp* Menggunakan Pewarnaan Gram

Hasil uji determinasi *Enterobacter sp* menggunakan pewarnaan gram ditunjukkan

pada Gambar 3. Pada pewarnaan Gram, bakteri *Enterobacter sp* akan berwarna merah muda dengan bentuk bakteri basil atau batang.

Gambar 3 Hasil uji determinasi *Enterobacter sp* menggunakan pewarnaan

Keterangan: Hasil uji pengamatan menggunakan perbesaran 1000x dengan minyak emersi. Bakteri *Enterobacter sp* merupakan bakteri yang berbentuk basil Gram negatif yang berwarna merah muda pada pewarnaan Gram.

Uji Sensitivitas Antibiotik

Hasil uji antibiotik berdasarkan terhadap luas zona inhibisi yang dinyatakan dalam milimeter (mm). Data yang didapatkan akan

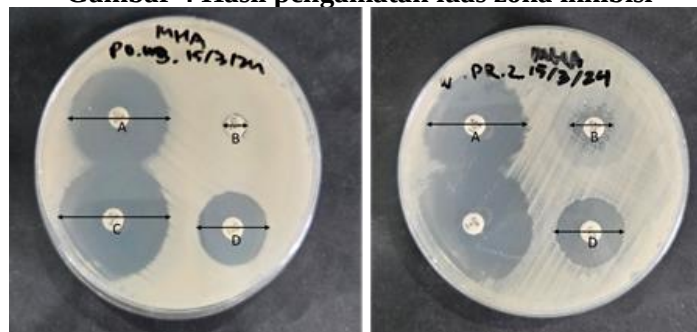
dianalisa dengan menggunakan *One Way Anova* apabila nilai signifikansi lebih dari 0.05 ($p > 0.05$) dan menggunakan *Mann Whitney U Test* apabila nilai signifikansi kurang dari 0.05 ($p < 0.05$). Hasil uji ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3 Hasil uji sensitivitas antibiotik

Antibiotik	Sampel Pre-IPAL			Sampel Post-IPAL	
		Jumlah Sampel (n=25 koloni)	Rerata Luas Zona Inhibisi (mm) $\pm$ SD	Jumlah Sampel (n=25 koloni)	Rerata Luas Zona Inhibisi (mm) $\pm$ SD
Meropenem	S	25(100%)	31,0180 $\pm$ 2,66513 ^b	25(100%)	45,3700 $\pm$ 76,21972
	I	0(0%)	-	0(0%)	-
	R	0(0%)	-	0(0%)	-
Ampicilin	S	8 (32%)	24,3875 $\pm$ 3,92335 ^a	5 (20%)	24,4400 $\pm$ 5,23288
	I	3 (12%)	15,9167 $\pm$ 0,42525 ^b	2(8%)	14,7000 $\pm$ 0,42426 ^b
	R	14 (56%)	7,2821 $\pm$ 5,80271 ^b	18 (72%)	4,0222 $\pm$ 4,86374 ^b
Ciprofloxacin	S	16 (64%)	35,9656 $\pm$ 2,80361 ^b	11 (44%)	34,2109 $\pm$ 3,41792 ^b
	I	9 (36%)	27,1000 $\pm$ 2,37316 ^a	12 (48%)	27,0583 $\pm$ 1,97770 ^a
	R	0	-	2 (8%)	8,0000 $\pm$ 2,82843
Gentamicin	S	23 (92%)	20,6152 $\pm$ 1,25666 ^b	14 (56%)	19,9679 $\pm$ 1,20824 ^b
	I	2 (8%)	16,5000 $\pm$ 0,70711	10 (40%)	16,3200 $\pm$ 0,75063 ^a
	R	0	-	1 (4%)	14

Keterangan: S menunjukkan *Susceptible*, I menunjukkan *Intermediate*, dan R menunjukkan *Resistant*. a menunjukkan bahwa data diuji dengan menggunakan *oneway anova*; b menunjukkan bahwa data diuji dengan menggunakan *mann-whitney*

Gambar 4 Hasil pengamatan luas zona inhibisi



Keterangan A menunjukkan diameter meropenem 28mm yang menunjukkan *susceptible*, B menunjukkan diameter ampicillin 0mm yang menunjukkan *resistant*, C menunjukkan diameter ciprofloxacin 28,2mm yang menunjukkan *intermediate*, dan D menunjukkan diameter gentamicin 16,5mm yang menunjukkan *intermediate*.

PEMBAHASAN

Penelitian menunjukkan bahwa air limbah pada salah satu Rumah Sakit Tipe C Malang mengandung bakteri *Enterobacter sp* yang merupakan bakteri Gram negatif berbentuk basil. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa air limbah sebelum dan setelah melalui instalasi pengolahan air limbah (IPAL) mengandung koloni *Enterobacter sp*. Namun, terdapat ketidakefektifan sistem IPAL dalam mengeliminasi bakteri *Enterobacter sp* karena rata-rata koloni yang didapatkan pada air limbah pre-IPAL adalah $2,37 \times 10^5$ CFU/mL,

dan untuk rata-rata koloni yang didapatkan pada air limbah post-IPAL adalah $1,4 \times 10^3$ CFU/mL. Untuk baku mutu air limbah domestik tersendiri adalah 3000 CFU/100m [15].

Untuk mengatasi pertumbuhan bakteri, diperlukan pengolahan limbah air berkelanjutan seperti penggunaan metode bioreaktor membran, oksidasi lanjut, disinfeksi air limbah, adsorpsi karbon aktif, dan filtrasi membran. Pada salah satu Rumah Sakit Tipe C Malang menggunakan sistem pengolahan limbah air yang terdiri dari proses aerasi, *clarifying* atau pemurnian, sedimentasi, filtrasi tekanan tinggi,

dan disinfeksi menggunakan klorin [16]. Pada awalnya pengolahan limbah air akan mengalami proses aerasi, dimana bakteri dikembangkan dengan tujuan untuk menghancurkan atau mengurangi partikel atau benda yang terkandung dalam limbah air. Selanjutnya limbah air akan memasuki proses *clarifying* atau pemurnian untuk mencegah benda atau partikel yang tidak hancur oleh bakteri untuk memasuki sistem pengolahan selanjutnya. Air limbah selanjutnya memasuki proses sedimentasi untuk mengendapkan lumpur pada limbah air. Setelah memasuki proses sedimentasi, limbah akan memasuki proses filtrasi atau penyaringan menggunakan tekanan tinggi dengan bantuan pasir dan juga karbon sehingga limbah air dipastikan tidak mengandung lumpur. Terakhir, limbah air akan memasuki proses disinfeksi dengan menggunakan klorin untuk mencegah bakteri keluar dari pengolahan limbah air rumah sakit sehingga limbah dapat disalurkan menuju saluran pembuangan kota.

Profil Bakteri *Enterobacter sp* pada Saluran Pembuangan Air Limbah Rumah Sakit.

Dalam penelitian ini, ditemukan bahwa air limbah pada salah satu Rumah Sakit Tipe C Malang mengandung bakteri Gram negatif yang berbentuk basil dan diidentifikasi sebagai *Enterobacter sp*. Identifikasi tersebut didukung oleh penggunaan media *CHROMagar Chromogenic Coliform Agar (CCA)*, di mana koloni *Enterobacter sp* akan menghasilkan warna merah muda atau merah keunguan. Hasil perhitungan koloni menunjukkan bahwa rata-rata koloni bakteri *Enterobacter sp* pada air limbah sebelum melalui sistem Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) adalah $5,3751 \pm 0,06328$ ($p = 0,000$) atau setara dengan $2,37 \times 10^5$ CFU/mL. Sedangkan pada air limbah setelah melalui IPAL, rata-rata koloni bakteri *Enterobacter sp* adalah $3,1493 \pm 0,06992$ ($p = 0,000$) atau setara dengan $1,4 \times 10^3$ CFU/mL. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun ada penurunan jumlah koloni setelah melalui IPAL, masih terdapat keberadaan bakteri *Enterobacter sp*. Penelitian lain didapatkan *Enterobacter sp* pada limbah air rumah sakit ($n = 61$), terdapat 55 (90,2%) koloni yang resisten terhadap Ampicillin, 43 (70,5%) koloni resisten terhadap Sefalosporin generasi ketiga (ceftriaxone dan cefotaxime), dan 27 (44,3%) koloni resisten terhadap Kotrimoksazol [17].

Efektivitas Sistem IPAL dalam Eliminasi Bakteri *Enterobacter sp*

Dalam penelitian ini rerata bakteri yang didapatkan pada sampel pre IPAL adalah 239.334 CFU/ml, sementara rata-rata bakteri *Enterobacter sp* yang didapat pada sampel post-IPAL adalah 1.430 CFU/ml. Sehingga didapatkan hasil bahwa sistem IPAL pada salah satu Rumah Sakit Tipe C Malang memiliki efektivitas eliminasi bakteri sebesar 99,67%. Selain itu, dapat dinyatakan bahwa jumlah *Enterobacter sp* yang terdapat pada limbah air sebelum memasuki IPAL lebih tinggi 99 kali lipat daripada *Enterobacter sp* yang berada pada limbah air rumah sakit setelah memasuki IPAL ($2,37 \times 10^5$ CFU/mL dibandingkan dengan $1,4 \times 10^3$; $p = 0,000$). Sejalan dengan penelitian sebelumnya yang mana menunjukkan bahwa proses pengolahan air limbah di IPAL rumah sakit dapat menghilangkan 99% *Enterobacter sp* dari air limbah[18]. Terdapat standar yang mengatur mengenai tingkat bakteri *Enterobacter sp* yang disalurkan menuju pengolahan limbah domestik. Standar ini ditetapkan oleh Kementrian Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia melalui Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia Nomor P.68/Menlhk/Setjen/Kum.1/8/2016. Dalam peraturan tersebut terdapat ketentuan yang mengatur batas maksimum kadar total *coliform* yang diperbolehkan dalam air limbah yang dibuang ke saluran pembuangan domestik setelah melalui proses pengolahan di IPAL. Batas maksimum tersebut ditetapkan sebesar 3000 CFU/100mL. Dimana dengan hasil yang telah didapat pada sampel post-IPAL (1.430 CFU/mL) maka hasil tersebut melebihi batas maksimum yang telah ditetapkan [19]. Bisa disebabkan oleh berbagai faktor salah satunya dari dosis penggunaan klorin yang tidak tepat[4].

Profil Sensitivitas Antibiotik Bakteri *Enterobacter sp*

Pada penelitian ini uji sensitivitas antibiotik dilaksanakan menggunakan metode Kirby-Bauer yang membagi dan mengukur tingkat sensitivitas terhadap antibiotik berdasarkan luas zona inhibisi [20]. Pada penelitian ini mengujikan sensitivitas bakteri *Enterobacter sp* terhadap antibiotik Meropenem, Ampicillin, Ciprofloxacin, dan Gentamicin. Pada sampel pre-IPAL dan post-IPAL, keduanya didapatkan menunjukkan adanya perubahan pola

sensitivitas terhadap antibiotik. Perubahan tersebut dapat terlihat pada adanya perubahan pada diameter zona inhibisi antibiotik. Meropenem ($p = 0,168$), Ampicillin ($p = 0,984$), Ciprofloxacin ($p = 0,093$), Gentamicin ($p = 0,154$).

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan sensitivitas antibiotik antara sampel air limbah sebelum dan setelah melalui sistem Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL). Pada sampel air limbah *post*-IPAL ($n = 25$) menunjukkan adanya perubahan pada tingkat sensitivitas antibiotik dengan hasil menunjukkan bahwa 20% bakteri *Enterobacter sp* ($n = 5$) *susceptible* terhadap antibiotik Ampicillin, 72% ($n = 18$) mengalami peningkatan sensitivitas (*resistant*) terhadap antibiotik Ampicillin. Lalu ada 44% bakteri *Enterobacter sp* ($n = 11$) *susceptible* terhadap antibiotik Ciprofloxacin, 48% ($n = 12$) mengalami peningkatan sensitivitas (*intermediate*) terhadap antibiotik Ciprofloxacin; dan ada 56% bakteri *Enterobacter sp* ($n = 14$) *susceptible* terhadap antibiotik Gentamicin, 40% ($n = 10$) mengalami peningkatan sensitivitas (*intermediate*) terhadap antibiotik Gentamicin. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Enterobacter sp* mengalami perubahan tingkat sensitivitas terhadap antibiotik selama bakteri tersebut memasuki sistem pengolahan limbah air rumah sakit IPAL.

Hasil yang didapat pada penelitian ini menunjukkan urutan penggunaan antibiotik untuk *Enterobacter sp* dari yang *resistant* sampai ke *susceptible* adalah Ampicillin, Ciprofloxacin, Gentamicin, dan Meropenem. Sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan *Enterobacter sp* telah mengalami *resistant* terhadap Ampicillin [21][22].

Resistensi yang terjadi pada bakteri *Enterobacter sp* dapat terjadi dikarenakan oleh faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal resisten pada *Enterobacter sp* merujuk pada resistensi antibiotik yang disebabkan oleh mutasi genetik dalam sel bakteri itu sendiri. Beberapa mekanisme internal resistensi pada *Enterobacter sp* meliputi mutasi pada target antibiotik seperti *penicillin-binding proteins*, sehingga antibiotik tidak dapat berikatan dengan targetnya [23]. Sementara untuk faktor eksternal dapat terjadi karena meningkatnya volume pelepasan senyawa mikropolutan dan karbon yang terdapat pada limbah air sehingga dapat menyebabkan bakteri mengalami adaptasi

terhadap mikropolutan tertentu [24]. Selain itu, faktor eksternal yang mempengaruhi pembentukan resistensi pada antibiotik adalah adanya antibiotik dan obat-obatan [25]. Dalam merespon stres yang diinduksi lingkungan, bakteri akan beradaptasi dari pembentukan mekanisme proteksi yang diatur melalui beberapa tingkatan mulai dari tingkat transkripsi, translasi, dan *post-translasi*, menyebabkan terjadinya perubahan ekspresi genetik, aktivitas protein, dan metabolisme seluler sehingga terbentuk resistensi terhadap antibiotik [26]. Disamping itu, kadar antibiotik yang tinggi dalam limbah air rumah sakit dapat menginduksi terjadinya resistensi antibiotik pada bakteri melalui antibiotik selective pressure, dimana bakteri akan terinduksi resistensinya terhadap antibiotik dan bakteri yang tidak terinduksi akan mati [27].

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa terdapat bakteri *Enterobacter sp* pada limbah air pada salah satu Rumah Sakit Tipe C Malang baik dari sebelum memasuki IPAL maupun sesudah memasuki IPAL. Disamping itu, diantara koloni *Enterobacter sp* yang didapatkan pada limbah air pada salah satu Rumah Sakit Tipe C Malang didapatkan Sebagian besar masih bersifat *susceptible* terhadap antibiotik kecuali pada Ampicillin yang menunjukkan hasil *resistant*. Ada kemungkinan bahwasanya adanya bakteri yang lolos dari sistem instalasi pengolahan air limbah disebabkan karena adanya resistensi terhadap agen disinfektan (klorin) yang digunakan pada sistem IPAL pada salah satu Rumah Sakit Tipe C Malang.

Temuan ini mengindikasikan adanya potensi risiko kesehatan yang terkait dengan limbah cair rumah sakit, terutama dalam penyebaran bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Hal ini menekankan pentingnya pengelolaan limbah cair rumah sakit yang tepat, termasuk perlunya pemantauan rutin dan penerapan strategi pengendalian infeksi yang efektif.

Sebagai saran, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut berupa Analisa profil resistensi terhadap antibiotik yang lebih luas menggunakan berbagai jenis antibiotik dan kombinasi antibiotik yang digunakan dalam penanganan infeksi *Enterobacter sp*. Peneliti juga menyarankan penelitian lanjutan yang ditujukan untuk menganalisa DNA pada

Enterobacter sp yang mengalami resistensi terhadap antibiotik tertentu.

Dengan demikian, penelitian ini memberikan kontribusi penting dalam pemahaman kita tentang mikrobiologi lingkungan, resistensi antibiotik, dan perlunya tindakan yang komprehensif untuk menjaga kualitas air dan melindungi kesehatan masyarakat dari potensi bahaya yang terkait dengan limbah cair rumah sakit

SARAN

Menurut hasil penelitian yang telah dilakukan, peneliti mengusulkan untuk adanya penelitian lanjutan yang berupa Analisa strain pada koloni *Enterobacter sp* yang terdapat dalam limbah air RSI UNISMA. Selanjutnya, diperlukan adanya penelitian lanjutan yang berupa Analisa profil resistensi terhadap antibiotik dengan menggunakan berbagai jenis dan kombinasi dari antibiotik yang digunakan untuk penanganan infeksi yang terjadi akibat bakteri *Enterobacter sp*. Kemudian, peneliti menyarankan adanya penelitian lanjutan guna untuk menganalisa DNA bakteri *Enterobacter sp* yang mengalami resistensi terhadap antibiotik tertentu.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya ucapkan kepada pihak yang terlibat dari Universitas Islam Malang, Laboratorium Pusat Riset Kedokteran Universitas Islam Malang, pihak dari Rumah Sakit Universitas Islam Malang, dan Ikatan Orangtua Mahasiswa FK UNISMA yang telah memberikan saya kesempatan untuk melakukan penelitian serta penyusunan jurnal penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] A. Kumari, N. S. Maurya, and B. Tiwari, "Hospital wastewater treatment scenario around the globe," in *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Environmental and Health Impact of Hospital Wastewater*, Elsevier, 2020, pp. 549–570. doi: 10.1016/B978-0-12-819722-6.00015-8.
- [2] M. Patel, R. Kumar, K. Kishor, T. Mlsna, C. U. Pittman, and D. Mohan, "Pharmaceuticals of emerging concern in aquatic systems: Chemistry, occurrence, effects, and removal methods," *Chemical Reviews*, vol. 119, no. 6. American Chemical Society, pp. 3510–3673, Mar. 27, 2019. doi: 10.1021/acs.chemrev.8b00299.
- [3] M. Ansari, M. H. Ehrampoush, M. Farzadkia, and E. Ahmadi, "Dynamic assessment of economic and environmental performance index and generation, composition, environmental and human health risks of hospital solid waste in developing countries; A state of the art of review," *Environment International*, vol. 132. Elsevier Ltd, Nov. 01, 2019. doi: 10.1016/j.envint.2019.105073.
- [4] V. K. Parida, D. Sikarwar, A. Majumder, and A. K. Gupta, "An assessment of hospital wastewater and biomedical waste generation, existing legislations, risk assessment, treatment processes, and scenario during COVID-19," *Journal of Environmental Management*, vol. 308. Academic Press, Apr. 15, 2022. doi: 10.1016/j.jenvman.2022.114609.
- [5] A. P. Sari and A. Yuniarto, "Simposium I Jaringan Perguruan Tinggi untuk Pembangunan Infrastruktur Indonesia," 2016.
- [6] D. I. Tirta, R. Latief, and S. Tato, "Hubungan Peran Serta Masyarakat Dalam Pengelolaan Limbah Domestik IPAL Losari Kecamatan Ujung Pandang Kota Makassar," *Urban and Regional Studies Journal*, vol. 5, no. 1, pp. 04–08, Dec. 2022, doi: 10.35965/ursj.v5i1.1960.
- [7] "PERATURAN MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA."
- [8] J. T. Thaden, J. M. Pogue, and K. S. Kaye, "Role of newer and re-emerging older agents in the treatment of infections caused by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae," *Virulence*, vol. 8, no. 4. Taylor and Francis Inc., pp. 403–416, May 19, 2017. doi: 10.1080/21505594.2016.1207834.

- [9] F. Huang, C. Magnin, and P. Brouqui, "Ingestible sensors correlate closely with peripheral temperature measurements in febrile patients," *Journal of Infection*, vol. 80, no. 2, pp. 161–166, Feb. 2020, doi: 10.1016/j.jinf.2019.11.003.
- [10] J. S. Lewis *et al.*, *M100 : performance standards for antimicrobial susceptibility testing*.
- [11] "Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol," 2009. [Online]. Available: www.atcc.org
- [12] "Gram Stain Protocols," 2019. [Online]. Available: www.asmscience.org
- [13] "Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols."
- [14] A. Jain, R. Jain, and S. Jain, "Basic Techniques in Biochemistry, Microbiology and Molecular Biology Principles and Techniques." [Online]. Available: <http://www.springer.com/series/8623>
- [15] "PERATURAN MENTERI LINGKUNGAN HIDUP DAN KEHUTANAN (1)".
- [16] T. Yuan and Y. Pian, "Hospital wastewater as hotspots for pathogenic microorganisms spread into aquatic environment: A review," *Frontiers in Environmental Science*, vol. 10. Frontiers Media S.A., Jan. 04, 2023. doi: 10.3389/fenvs.2022.1091734.
- [17] M. A. G. Rabbani, M. Z. H. Howlader, and Y. Kabir, "Detection of multidrug resistant (MDR) bacteria in untreated waste water disposals of hospitals in Dhaka City, Bangladesh," *J Glob Antimicrob Resist*, vol. 10, pp. 120–125, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.jgar.2017.04.009.
- [18] E. Korzeniewska, A. Korzeniewska, and M. Harnisz, "Antibiotic resistant *Escherichia coli* in hospital and municipal sewage and their emission to the environment," *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 91, pp. 96–102, May 2013, doi: 10.1016/j.ecoenv.2013.01.014.
- [19] "PERATURAN MENTERI LINGKUNGAN HIDUP DAN KEHUTANAN (1)".
- [20] R. Of and Technologists, "TECHNICAL SECTION ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY TESTING BY A STANDARDIZED SINGLE DISK METHOD," 1966. [Online]. Available: https://academic.oup.com/ajcp/article-abstract/45/4_ts/493/4821085
- [21] A. Obayiuwana, A. Ogunjobi, M. Yang, and M. Ibekwe, "Characterization of bacterial communities and their antibiotic resistance profiles in wastewaters obtained from pharmaceutical facilities in lagos and Ogun states, Nigeria," *Int J Environ Res Public Health*, vol. 15, no. 7, Jul. 2018, doi: 10.3390/ijerph15071365.
- [22] R. K. Manik, Z. Mahmud, I. D. Mishu, M. S. Hossen, Z. H. Howlader, and A. H. M. N. Nabi, "Multidrug Resistance Profiles and Resistance Mechanisms to β -Lactams and Fluoroquinolones in Bacterial Isolates from Hospital Wastewater in Bangladesh," *Curr Issues Mol Biol*, vol. 45, no. 8, pp. 6485–6502, Aug. 2023, doi: 10.3390/cimb45080409.
- [23] G. A. Jacoby, "AmpC B-Lactamases," *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 22, no. 1, pp. 161–182, Jan. 2009. doi: 10.1128/CMR.00036-08.
- [24] D. Izabel-Shen *et al.*, "Repeated introduction of micropollutants enhances microbial succession despite stable degradation patterns," *ISME Communications*, vol. 2, no. 1, Dec. 2022, doi: 10.1038/s43705-022-00129-0.
- [25] R. Kaur, B. Yadav, and R. D. Tyagi, "Microbiology of hospital wastewater," in *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*:

Environmental and Health Impact of Hospital Wastewater, Elsevier, 2020, pp. 103–148. doi: 10.1016/B978-0-12-819722-6.00004-3.

- [26] J. Dawan and J. Ahn, “Bacterial Stress Responses as Potential Targets in Overcoming Antibiotic Resistance,” *Microorganisms*, vol. 10, no. 7. MDPI, Jul. 01, 2022. doi: 10.3390/microorganisms10071385.
- [27] A. Tello, B. Austin, and T. C. Telfer, “Selective pressure of antibiotic pollution on bacteria of importance to public health,” *Environ Health Perspect*, vol. 120, no. 8, pp. 1100–1106, Aug. 2012, doi: 10.1289/ehp.1104650.