

SEBARAN BAKTERI DAN PROFIL RESISTENSI ANTIBIOTIK *Escherichia coli* PADA SALURAN PEMBUANGAN AIR DI RUMAH SAKIT TIPE C DI MALANG

Lutfan Achmad, Citra Destya Rahma Putri, Raden Muhammad Hardadi Airlangga*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Limbah medis berpotensi menjadi sumber penyebaran bakteri patogen yang resisten terhadap antibiotik. *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang, tidak berspora, dan bersifat anaerobik fakultatif. Bakteri ini dikenal resisten terhadap antibiotik, namun profil resistensinya terhadap beberapa jenis antibiotik di lingkungan rumah sakit masih belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji sebaran dan profil resistensi bakteri *Escherichia coli* yang berasal dari saluran pembuangan air rumah sakit tipe C di Malang terhadap antibiotik Ampicilin, Gentamicin, Ciprofloxacin, dan Meropenem.

Metode: 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*. Sampel yang digunakan yaitu air yang berasal dari saluran pembuangan sebelum dan sesudah memasuki pengolahan limbah di rumah sakit tipe C di Malang.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel limbah air pre-IPAL mengandung bakteri *Escherichia coli* dengan rata-rata sebesar log 4,1326 (CFU/ml). Sementara itu, sampel limbah air post-IPAL mengandung bakteri *Escherichia coli* dengan rata-rata sebesar log 1,5807 (CFU/ml). Bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari kedua jenis sampel tersebut memperlihatkan tingkat resistensi yang tinggi terhadap antibiotik Ampicilin, Gentamicin, Ciprofloxacin, dan Meropenem.

Kesimpulan: Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* menunjukkan ketahanan terhadap zat disinfektan yang diterapkan dalam Instalasi Pengolahan Air Limbah. Oleh karena itu, bakteri ini masih dapat terdeteksi dalam sampel air limbah yang telah melalui proses pengolahan di IPAL.

Kata Kunci : Limbah air rumah sakit; *Escherichia coli*; tingkat resistensi terhadap antibiotik

*Penulis Korespondensi:

dr. H. R. M. Hardadi Airlangga, Sp.PD

Jl. MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

DISTRIBUTION OF BACTERIA AND ANTIBIOTIC RESISTANCE PROFILE OF *Escherichia coli* IN WASTEWATER DRAINAGE SYSTEMS OF TYPE C HOSPITALS IN MALANG

Lutfan Achmad, Citra Destya Rahma Putri, Raden Muhammad Hardadi Airlangga*
Faculty of Medicine University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Medical waste has the potential to be a source of dissemination for antibiotic-resistant pathogenic bacteria. *Escherichia coli* is a Gram-negative, rod-shaped bacterium, non-sporulating, and facultatively anaerobic. This bacterium is known to be resistant to antibiotics, yet its resistance profile to several types of antibiotics in the hospital environment remains unknown. This study aims to examine the distribution and resistance profile of *Escherichia coli* bacteria originating from type C hospital sewers in Malang to the antibiotics Ampicillin, Gentamicin, Ciprofloxacin, and Meropenem.

Method: 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 sample used was water originating from the sewer before and after entering waste processing at a type C hospital in Malang.

Results: The research findings indicate that pre-IPAL wastewater samples contain *Escherichia coli* bacteria with an average of log 4.1326 (CFU/ml). Meanwhile, post-IPAL wastewater samples contain *Escherichia coli* bacteria with an average of log 1.5807 (CFU/ml). *Escherichia coli* bacteria isolated from both types of samples demonstrate a high level of resistance to the antibiotics Ampicillin, Gentamicin, Ciprofloxacin, and Meropenem.

Conclusion: The results of this study indicate that *Escherichia coli* bacteria exhibit resistance to the disinfectant agents applied in the Wastewater Treatment Plant. Therefore, these bacteria can still be detected in wastewater samples that have undergone treatment at the Wastewater Treatment Plant.

Keywords: Hospital wastewater; *Escherichia coli*; antibiotic resistance level

*Correspondence Author:

dr. H. R. M. Hardadi Airlangga, Sp.PD

Jl. MT. Haryono 193 Malang, East Java, Indonesia, 65144

PENDAHULUAN

Infeksi *nosocomial*, atau infeksi terkait pelayanan kesehatan, sering kali terjadi pada pasien yang sedang menjalani perawatan medis, dan kejadian ini dapat ditemukan di seluruh dunia, termasuk di negara-negara maju maupun berkembang (1). Menurut *World Health Organization* (WHO), sekitar 15% dari seluruh pasien yang menjalani perawatan di rumah sakit mengalami infeksi *nosocomial*. Patogen *nosocomial* mencakup berbagai mikroorganisme seperti bakteri, virus, dan jamur parasit. Selama masa perawatan di rumah sakit, pasien terpapar patogen dari berbagai sumber, termasuk lingkungan, staf kesehatan, dan pasien lain yang sudah terinfeksi atau yang membawa patogen tersebut (1).

National Healthcare Safety Network bersama *Centers For Disease Control For Surveillance* mengelompokkan infeksi *nosocomial* menjadi beberapa agen yang umumnya terlibat meliputi *Streptococcus spp.*, *Acinetobacter spp.*, *enterococci*, *Pseudomonas aeruginosa*, *coagulase-negative staphylococci*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus aereus*, *Legionella*, dan keluarga *Enterobacteriaceae*, seperti *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, dan *Serratia marcescens*.

Di Indonesia, khususnya di Rumah Sakit Dr. Soetomo, telah dirawat 276 pasien dengan infeksi aliran darah Gram-negatif. Sekitar 17% dari kasus tersebut disebabkan oleh *Escherichia coli*. Mayoritas pasien adalah mereka yang berusia di atas 60 tahun mencapai 28%, dengan mayoritas di antaranya adalah perempuan, mencapai 54%. Studi tentang profil kultur darah pasien sepsis di Unit Perawatan Intensif (ICU) - Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya mengungkapkan bahwa bakteri Gram-negatif merupakan 25% dari total kultur positif. Dari bakteri Gram-negatif tersebut, *Enterobacteriaceae* menunjukkan proporsi sebesar 59%, diikuti oleh *Acinetobacter baumannii* sebesar 29% (2).

Escherichia coli adalah jenis bakteri gram negatif tanpa spora, berbentuk batang, dan bersifat anaerobik fakultatif. Bakteri ini tergolong dalam genus *Escherichia* dan biasanya ditemukan di lingkungan, makanan, serta saluran pencernaan mamalia (3). Bakteri ini seringkali menunjukkan ketahanan terhadap antibiotik, yang secara global terkait dengan infeksi di rumah sakit dan infeksi aliran darah yang dapat mengancam nyawa (4). Bakteri *Escherichia coli* sering ditemukan di limbah air rumah sakit (5). Bakteri ini sering menunjukkan ketahanan terhadap antimikroba yang memiliki signifikansi klinis, termasuk sefalosporin dan karbapenem, dan seringkali juga resisten terhadap berbagai jenis obat lainnya (4). Salah satu alasan tingginya resistensi ini terkait dengan penggunaan antibiotik medis yang berkelanjutan (6). Meskipun sebagian besar strain *Escherichia coli* tidak berbahaya dan merupakan bagian normal flora dari saluran pencernaan manusia, terdapat strain yang dapat menjadi patogen bagi manusia (5).

Penatalaksanaan infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* melibatkan terapi antibiotik yang digunakan seperti Ampicilin, Gentamicin, Meropenem, dan Ciprofloxacin. Meski demikian, secara umum, terbentuknya resistensi cenderung lebih dominan terhadap golongan antibiotik β -lactam, *Fluoroquinolon*, dan *Aminoglikosida* (7).

Menurut *World Health Organization* (WHO), limbah medis telah didefinisikan sebagai produk akhir dari layanan medis dan mencakup barang-barang seperti perangkat medis, benda tajam, darah, bagian tubuh, bahan kimia, obat-obatan, bahan radioaktif, dan air limbah medis.

Terkait limbah medis tersebut, perlu dipahami bahwa bakteri, sebagai mikroorganisme, memiliki fleksibilitas genetik yang luar biasa. Kemampuan ini memberikan bakteri daya adaptasi yang tinggi untuk menghadapi berbagai tantangan lingkungan yang mungkin timbul dari penanganan limbah medis tersebut (8).

Untuk mengatasi risiko limbah medis, Indonesia telah mengeluarkan Peraturan Menteri Kesehatan nomor 40 tahun 2022. Peraturan ini menetapkan standar teknis yang harus dipenuhi oleh bangunan, infrastruktur, dan dapat disalurkan ke sistem air kotor dan siap diolah di Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL). Berdasarkan Peraturan Menteri Lingkungan Hidup nomor 5 tahun 2014 mengenai standar kualitas air limbah, hasil pengolahan limbah air rumah sakit diwajibkan memenuhi parameter biologi. Parameter ini terkait dengan total bakteri *coliform*, yang setelah proses pengolahan harus memiliki nilai kurang dari 5000 Most Probable Number (MPN) per 100 mililiter (9).

Meskipun sebagian besar bakteri dapat dihilangkan selama proses pengolahan limbah air rumah sakit, masih ada potensi keberadaan sejumlah kecil bakteri patogenik yang mungkin resisten atau tidak resisten terhadap antibiotik yang dapat melewati tahap pengolahan. Hal ini dapat menimbulkan risiko penyebaran bakteri tersebut ke lingkungan sekitar (4). Air limbah dari rumah sakit selanjutnya dialirkan ke perairan yang mungkin mengandung kontaminan seperti bakteri yang resisten terhadap antibiotik dan senyawa kimia. Hal ini dapat menjadi potensi ancaman terhadap kesehatan masyarakat karena ada kemungkinan transfer gen resistensi antibiotik dari bakteri patogenik ke bakteri oportunistik di lingkungan sekitar (10).

Berdasarkan uraian diatas, maka diperlukan penelitian untuk menganalisis sebaran profil bakteri dan profil resistensi pada bakteri *Escherichia coli* pada limbah air rumah sakit sebagai salah satu cara untuk mengurangi dan mencegah terjadinya infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli*. Disamping itu, penelitian ini juga dilakukan untuk mengetahui apakah limbah air rumah sakit tipe C di Malang ini telah memenuhi standar pengolahan limbah air yang sesuai untuk menjaga kesehatan lingkungan di lingkungan sekitar rumah sakit tipe C ini.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat, dan Waktu Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis studi eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *in vitro*. Metode yang digunakan adalah kultur bakteri dari sampel air dan pengujian resistensi terhadap antibiotik menggunakan metode *Kirby-Bauer*. (11). Sampel yang digunakan adalah limbah air dari rumah sakit tipe C di Malang sebelum dan setelah melalui Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran Universitas Islam Malang (LPRK UNISMA). Penelitian ini dimulai pada bulan Maret hingga April 2024.

Sampel dan populasi penelitian

Sampel yang dipergunakan dalam studi ini merupakan limbah air rumah sakit yang diambil dari dua lokasi, yakni sebelum memasuki Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) atau disebut Ground Tank, dan setelah melewati IPAL atau disebut Bak Indikator. Sementara itu, populasi yang menjadi objek penelitian adalah koloni bakteri *Escherichia coli* yang berasal dari limbah air rumah sakit. Pengambilan sampel diulang sebanyak 6 kali.

Kultur bakteri *Escherichia coli*

Kultur bakteri dilakukan setelah menyiapkan sampel dengan melakukan pengenceran menggunakan saline steril. Konsentrasi pengenceran yang digunakan dalam kultur adalah 1x, 10x, dan 100x (12,13). Sampel yang telah disiapkan kemudian diinokulasi pada media spesifik berupa *CHROM agar Coliform Chromogenic Agar* (CCA) dalam cawan petri. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh kemudian dianalisis berdasarkan warna koloninya, di mana bakteri *Escherichia coli* akan membentuk koloni berwarna biru (14).

Koloni yang diperoleh dari media *CHROM agar* selanjutnya diinokulasi kembali pada media *Mc Conkey*. Media *Mc Conkey* merupakan media yang spesifik untuk bakteri Gram negatif dan bersifat selektif berdasarkan kemampuan fermentasi laktosa. Proses inokulasi dilakukan dengan cara mengambil koloni yang tumbuh pada media *CHROM Agar CCA* menggunakan jarum ose, kemudian menginokulasikannya secara langsung pada media *Mc Conkey*. Media yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi pada suhu 38°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi, koloni yang tumbuh dianalisis berdasarkan kemampuannya dalam memfermentasi laktosa. Hasil analisis menunjukkan bahwa koloni yang tidak mampu memfermentasi laktosa akan berwarna merah pada media tersebut. Dalam hal ini, koloni bakteri *Escherichia coli* akan menunjukkan warna merah karena memiliki kemampuan untuk memfermentasi laktosa (15).

Perhitungan Populasi yang Digunakan dalam Uji Sensitivitas Antibiotik *Escherichia coli*

Populasi koloni bakteri *Escherichia coli* yang digunakan untuk uji sensitivitas antibiotik dihitung menggunakan rumus *Slovin Formula* sebagai berikut.

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

Dalam konteks ini, huruf "n" merujuk pada jumlah koloni yang digunakan, sedangkan huruf "N" menunjukkan populasi koloni bakteri *Escherichia coli* yang didapatkan dari media *CHROM agar* yang telah dinyatakan valid, dengan kisaran antara 30 hingga 300 koloni, dan huruf "E" merupakan tingkat kesalahan atau *error rate*, yang diperkirakan sebanyak 20%. Setelah dilakukan penghitungan, maka didapatkan hasil bahwa koloni bakteri *Escherichia coli* yang dapat digunakan dalam kultur bakteri pada media *Mc Conkey* dan untuk uji sensitivitas antibiotik sebesar 17 koloni bakteri.

Perhitungan Perkiraan Koloni Bakteri pada Sampel Limbah Air

Perhitungan untuk perkiraan jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* yang didapat pada sampel limbah air dapat dilakukan menggunakan rumus sebagai berikut.

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

Uji Determinasi *Escherichia coli* Menggunakan Pewarnaan Gram

Object glass dipanaskan di atas api bunsen kemudian didinginkan hingga suhu ruangan sebelum ditetaskan saline steril. Koloni bakteri yang tumbuh pada media *Mueller Hinton Agar* diambil dengan jarum ose yang dipanaskan dan dicampurkan dengan saline steril di atas *object glass*. Kemudian, *object glass* dikeringkan dengan menganginkannya pada ruangan sebelum dipanaskan lagi di atas api bunsen untuk difiksasi. Setelah itu, *object glass* ditetaskan reagen *Crystal violet* dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dipanaskan lagi di atas api bunsen sebelum dialiri aquades. *Object glass* kemudian diberi tetesan reagen *Iodine* dan didiamkan selama 1 menit sebelum kembali dibilas dengan aquades. Pemberian reagen *Safranin* dilakukan, dan setelah didiamkan selama 30 detik, *object glass* kembali dibilas dengan aquades hingga warna hilang. Setelah dikeringkan, *object glass* diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 1000x dengan bantuan minyak emersi. Koloni bakteri Gram positif akan berwarna ungu kebiruan, sementara koloni bakteri Gram negatif akan berwarna merah (16).

Uji Sensitivitas Antibiotik *Escherichia coli*

Ambil beberapa koloni *Escherichia coli* dari media *CHROM Agar* menggunakan jarum ose yang telah dipanaskan, lalu pindahkan ke media

McConkey untuk subkultur sebanyak 17 koloni. Inkubasi dilakukan pada suhu 38°C selama 24 jam untuk mendukung pertumbuhan koloni. Selanjutnya, perhatikan karakteristik fermentasi laktosa dari koloni yang tumbuh di media *McConkey* untuk memverifikasi identitasnya sebagai *Escherichia coli*. Ambil sekitar 4–5 koloni menggunakan jarum ose yang telah dipanaskan, larutkan dalam 2 ml *saline* steril, aduk hingga merata, dan sesuaikan hingga mencapai tingkat kekeruhan sekitar 0,5 *McFarland Standard* untuk menyiapkan inokulum. Gunakan swab steril yang dicelupkan ke dalam inokulum untuk menginokulasi media *Mueller Hinton Agar*. Biarkan media mengering setelah proses inokulasi selesai. Tempatkan cakram antibiotik dengan jumlah tidak lebih dari 12 cakram untuk cawan petri berukuran 150 mm, atau tidak lebih dari 5 cakram untuk cawan petri berukuran 90 mm, dengan jarak 30 mm dan jangan dipindahkan setelah ditempatkan. Inkubasi media dilakukan kembali pada suhu 35°C selama 16–18 jam. Setelah inkubasi selesai, ukur diameter zona inhibisi menggunakan penggaris (17). Hasil interpretasi pada uji sensitivitas terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1 Standar Interpretasi Uji Sensitivitas Antibiotik

Jenis Antibiotik	<i>Susceptible</i>	<i>Intermediate</i>	<i>Resistant</i>
Ampicilin (10 µg)	≥ 17 mm	14 – 16 mm	≤ 13 mm
Gentamicin (10 µg)	≥ 15 mm	13 – 14 mm	≤ 12 mm
Meropenem (10 µg)	≥ 23 mm	20 – 22 mm	≤ 19 mm
Ciprofloxacin (5 µg)	≥ 31 mm	21 – 30 mm	≤ 20 mm

Perhitungan Efektivitas Eliminasi Bakteri pada Sistem Pengolahan Limbah Air Rumah Sakit

Efektivitas sistem Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) dalam mengeliminasi atau menghilangkan bakteri *Escherichia coli* diukur dengan menggunakan rumus perhitungan sebagai berikut (18).

$$\frac{\text{Rerata Bakteri Pre IPAL} - \text{Rerata Bakteri PostIPAL}}{\text{Total Bakteri Pre IPAL}} \times 100$$

Metode Analisa Data

Proses analisis data dilakukan menggunakan perangkat lunak *IBM SPSS for Windows*. Data yang diperoleh dari hasil kultur bakteri akan diolah secara statistik menggunakan metode *Independent T Test*. Metode ini bertujuan untuk membandingkan jumlah koloni bakteri yang ditemukan pada kedua sampel. Sebelum analisis dilakukan, data harus memenuhi syarat uji normalitas dan homogenitas dengan nilai p lebih besar dari 0,05 ($P > 0.05$). Sementara itu, data yang dihasilkan dari uji sensitivitas antibiotik akan dianalisis secara deskriptif untuk setiap jenis antibiotik yang diuji.

HASIL DAN ANALISA DATA

Kultur dan Perhitungan Koloni Bakteri *Escherichia coli*

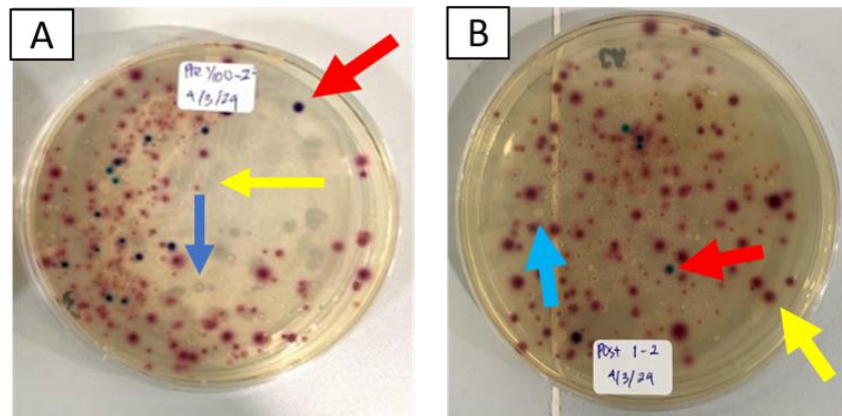
Hasil kultur dan penghitungan koloni bakteri *Escherichia coli* yang diperoleh dari media *CHROM agar CCA* akan dikonversi ke dalam bentuk CFU/ml untuk memperkirakan jumlah koloni dalam limbah air. Data tersebut kemudian akan diubah kembali menjadi bentuk Log_{10} . Selanjutnya, data tersebut akan dianalisis menggunakan metode statistik *Independent T Test*, di mana hasil signifikansi (p) yang diperoleh adalah 0,004. Hasil kultur ditunjukkan pada Gambar 1, Rata-rata jumlah koloni pada limbah air pre-IPAL, dalam bentuk Log_{10} adalah $4,1326 \pm 0,05666$ ($p = 0,004$) setara dengan $6,2 \times 10^4$ CFU/mL. Disisi lain, rata-rata jumlah koloni pada limbah air post-IPAL dalam bentuk Log_{10} adalah $1,5807 \pm 0,45481$ ($p = 0,004$) atau setara dengan $4,8 \times 10^4$ CFU/mL.

Uji Determinasi *Escherichia coli* Menggunakan Pewarnaan Gram

Analisa koloni bakteri yang tumbuh pada media *CHROM Agar* dilakukan berdasarkan warna koloni yang terbentuk. Pada media ini, koloni bakteri *Escherichia coli* akan tampak berwarna biru hingga ungu (Gambar 1). Selanjutnya, koloni tersebut diinokulasikan ke media *McConkey* untuk determinasi ulang. Proses ini bertujuan untuk mengamati kemampuan bakteri dalam memfermentasi laktosa. Bakteri *Escherichia coli*, sebagai bakteri yang mampu memfermentasi laktosa, akan membentuk koloni berwarna merah pada media *McConkey* (Gambar 2). Tahap berikutnya, koloni yang tumbuh pada media *McConkey* akan diinokulasikan kembali ke media *Mueller-Hinton Agar*. Pada media ini, dilakukan pengecatan Gram sebagai determinasi akhir. Melalui pengecatan Gram, bakteri *Escherichia coli* akan terlihat sebagai bakteri berbentuk batang dan berwarna merah (Gambar 3).

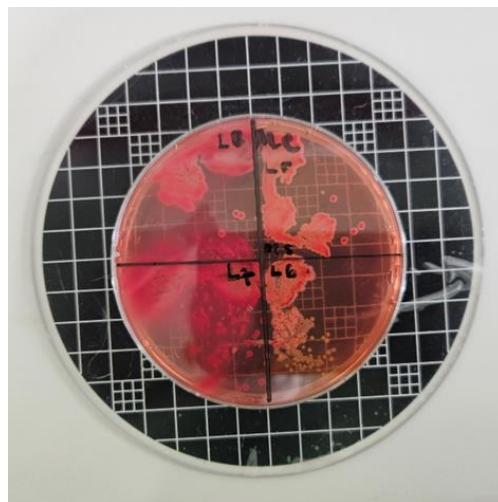
Uji Sensitivitas Antibiotik

Hasil uji sensitivitas antibiotik dievaluasi berdasarkan luas zona inhibisi yang diukur dalam milimeter (mm). Data yang diperoleh akan diolah secara statistik menggunakan metode *Independent T Test*, jika data tersebut tersebar normal dan homogen. Sementara data yang tidak tersebar normal dan homogen akan diuji menggunakan *Mann Whitney U Test*. Hasil uji ditunjukkan pada Gambar 4 Tabel 2.



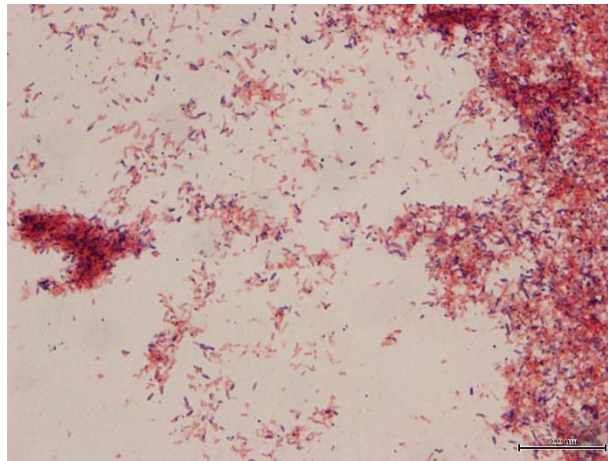
Gambar 1 Hasil Kultur Koloni Bakteri Pada Media CHROM Agar

Keterangan : Gambar A memperlihatkan hasil kultur koloni bakteri dari sampel yang diambil sebelum memasuki Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL), sedangkan Gambar B menunjukkan hasil kultur dari sampel setelah melalui IPAL. Pada kedua gambar tersebut, terdapat tiga jenis koloni bakteri yang ditandai dengan panah berwarna berbeda. Panah merah menunjukkan keberadaan koloni bakteri *Escherichia coli*, panah biru mengindikasikan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dan panah kuning menandai koloni bakteri *Enterobacter sp.*



Gambar 2 Hasil Kultur Pada Media Mc Conkey

Keterangan : Pada media McConkey, bakteri *Escherichia coli* membentuk koloni yang berwarna merah. Warna ini merupakan ciri khas yang membantu dalam identifikasi bakteri tersebut.



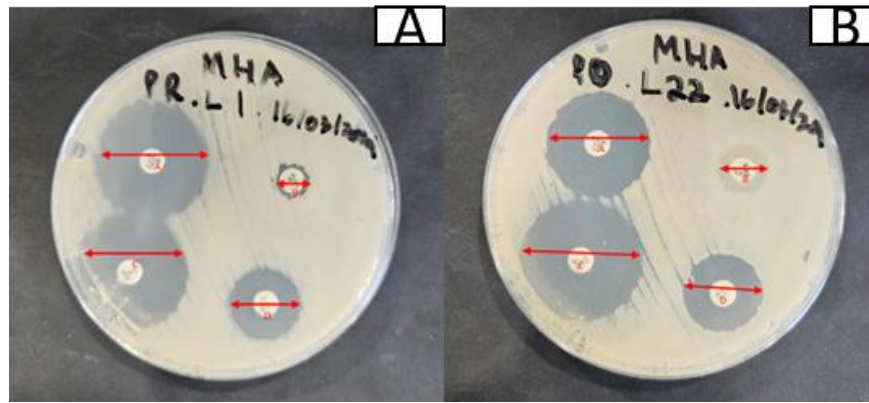
Gambar 3 Hasil Determinasi Bakteri *Escherichia coli*

Keterangan : Pengamatan hasil uji dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x, dibantu oleh minyak emersi untuk meningkatkan kejernihan gambar. Untuk memastikan bahwa koloni bakteri yang tumbuh pada media kultur adalah *Escherichia coli*, dilakukan determinasi melalui pewarnaan Gram. Dalam proses pewarnaan ini, *Escherichia coli* akan terlihat sebagai bakteri berbentuk batang atau basil yang berwarna kemerahan.

Tabel 2 Hasil Uji Zona Inhibisi Antibiotik

Antiniotik		Sampel Pre-IPAL		Sampel Post-IPAL	
		Jumlah Koloni (n=17)	Rerata Luas Zona Inhibisi (mm) $\pm$ SD	Jumlah Koloni (n=17)	Rerata Luas Zona Inhibisi (mm) $\pm$ SD
Ampicilin	S	9 (53%)	21,6 $\pm$ 1.4378	4 (24%)	23,55 $\pm$ 3.6574
	I	2 (12%)	15,7 $\pm$ 0.9899	2 (12%)	15,25 $\pm$ 1.7677
	R	6 (35%)	5,1833 $\pm$ 3.3767	11 (65%)	5,3363 $\pm$ 2.1169
Gentamicin	S	16 (94%)	16,9687 $\pm$ 1.2147	16 (94%)	20,5312 $\pm$ 4.7962
	I	1 (6%)	14,7	0 (0%)	-
	R	0 (0%)	-	1 (6%)	0
Meropenem	S	17 (100%)	30,7647 $\pm$ 1.8671	13 (76%)	31,6153 $\pm$ 4.4933
	I	0 (0%)	-	4 (24%)	21,15 $\pm$ 0.3000
	R	0 (0%)	-	0 (0%)	-
Ciprofloxacin	S	9 (53%)	36,4444 $\pm$ 4.9477	11 (65%)	36,4090 $\pm$ 5.7810
	I	8 (47%)	25,2 $\pm$ 3.5238	6 (35%)	24,9833 $\pm$ 2.6716
	R	0 (0%)	-	0 (0%)	-

Keterangan: S adalah Susceptible; I adalah Intermediate; R adalah Resistant.



Gambar 4 Hasil Pengamatan Luas Zona Inhibisi

Keterangan:

*Gambar A adalah gambar hasil pengamatan luas zona inhibisi pre-IPAL; dengan (A) menunjukkan luas zona inhibisi antibiotik Meropenem yang tergolong *susceptible* ($\text{Ø} = 28,4 \text{ mm}$); (B) menunjukkan luas zona inhibisi antibiotik Ampicilin yang tergolong *resistant* ($\text{Ø} = 7,5 \text{ mm}$); (C) menunjukkan luas zona inhibisi antibiotik Ciprofloxacin yang tergolong *intermediate* ($\text{Ø} = 29,7 \text{ mm}$); (D) menunjukkan luas zona inhibisi antibiotik Gentamicin yang tergolong *susceptible* ($\text{Ø} = 18,5 \text{ mm}$).

*Gambar B adalah gambar hasil pengamatan luas zona inhibisi post-IPAL; dengan (A) menunjukkan luas zona inhibisi antibiotik Meropenem yang tergolong *intermediate* ($\text{Ø} = 21,6 \text{ mm}$); (B) menunjukkan luas zona inhibisi antibiotik Ampicilin yang tergolong *resistant* ($\text{Ø} = 8 \text{ mm}$); (C) menunjukkan luas zona inhibisi antibiotik Ciprofloxacin yang tergolong *intermediate* ($\text{Ø} = 28 \text{ mm}$); (D) menunjukkan luas zona inhibisi antibiotik Gentamicin yang tergolong *susceptible* ($\text{Ø} = 21,4 \text{ mm}$).

PEMBAHASAN

Sebaran Bakteri pada Saluran Pembuangan Air Limbah Rumah Sakit

Penelitian ini menunjukkan keberadaan bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Enterobacter sp.* dalam air limbah rumah sakit, baik sebelum maupun setelah melalui proses di Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) (13,19). Hasil analisis menunjukkan penurunan jumlah bakteri setelah proses pengolahan di IPAL. Rerata bakteri *Enterobacter sp.* berkurang dari $2,4 \times 10^5$ CFU/ml pada air limbah pre-IPAL, menjadi $1,4 \times 10^3$ CFU/ml setelah melalui IPAL (13). Demikian pula, rerata bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mengalami penurunan dari $2,7 \times 10^4$ CFU/ml pada sampel air limbah pre-IPAL, menjadi $9,07 \times 10^2$ CFU/ml setelah melalui proses pengolahan di IPAL (19). Temuan ini sejalan dengan studi terdahulu yang mengidentifikasi berbagai bakteri Gram negatif pada air limbah rumah sakit. Beberapa jenis bakteri yang umum ditemukan meliputi *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio*, *Clostridium*, *Yersinia*, *Campylobacter*, dan *Leptospira*. Selain itu, kelompok bakteri coliform seperti *Enterobacter*, *Klebsiella*, dan *Escherichia coli* juga kerap terdeteksi dalam jumlah signifikan pada sampel air limbah dari fasilitas kesehatan tersebut (20). Salah satu keterbatasan dalam studi ini adalah tidak dilakukannya analisis terhadap profil dan sebaran bakteri Gram positif. Aspek ini merupakan celah yang dapat menjadi bahan pertimbangan untuk penelitian lanjutan guna memperoleh gambaran yang lebih komprehensif

mengenai populasi mikroba dalam limbah air rumah sakit.

Adanya bakteri dalam air limbah yang telah melalui IPAL mengindikasikan kurang optimalnya kinerja sistem pengolahan tersebut. Eliminasi bakteri secara efektif seharusnya terjadi terutama pada tahap pengolahan sekunder, yang dalam penelitian ini menggunakan metode *Activated Sludge Process* (ASP), serta pada tahap akhir berupa proses disinfeksi dengan klorin (21). Tahap disinfeksi merupakan langkah puncak yang diharapkan dapat memusnahkan seluruh mikroorganisme yang tersisa dalam air limbah. Klorin, sebagai agen disinfektan yang paling umum digunakan secara global, memerlukan pengaturan dosis yang cermat. Hal ini penting untuk menghindari risiko timbulnya resistensi bakteri terhadap klorin, yang dapat mengakibatkan mikroorganisme tersebut bertahan hidup selama proses disinfeksi dan berpotensi menyebar ke sistem pengolahan air limbah umum (22). Studi terdahulu mengungkapkan bahwa metode *Activated Sludge Process* (ASP) memiliki keterbatasan dalam mengeliminasi patogen, termasuk bakteri. Selain itu, proses disinfeksi konvensional dinilai kurang efektif dalam membasmi mikroorganisme patogen jika tidak diintegrasikan dengan tahap pengolahan tersier. Penambahan metode lanjutan seperti ozonasi atau radiasi dipandang perlu untuk meningkatkan efektivitas eliminasi patogen dalam air limbah (21).

Profil Bakteri *Escherichia coli* pada Saluran Pembuangan Air Limbah Rumah Sakit

Penelitian ini menemukan bahwa limbah air dari Rumah Sakit tipe C di Malang mengandung bakteri Gram negatif dengan morfologi basil. Melalui pewarnaan Gram, bakteri tersebut berhasil diidentifikasi sebagai *Escherichia coli* (Gambar 3). Validasi tambahan dilakukan menggunakan media *CHROM Agar Chromogenic Coliform Agar* (CCA), di mana *Escherichia coli* membentuk koloni dengan variasi warna dari biru hingga ungu (Gambar 1).

Analisis koloni dalam penelitian ini menunjukkan perbedaan signifikan antara sampel limbah air pre-IPAL dan post-IPAL. Rata-rata jumlah koloni pada limbah air pre-IPAL, dalam bentuk Log_{10} adalah $4,1326 \pm 0,05666$ ($p = 0,004$) setara dengan $6,2 \times 10^4$ CFU/mL. Disisi lain, rata-rata jumlah koloni pada limbah air post-IPAL dalam bentuk Log_{10} adalah $1,5807 \pm 0,45481$ ($p = 0,004$) atau setara dengan $4,8 \times 10^4$ CFU/mL. Temuan ini menunjukkan adanya ketidakefektifan sistem IPAL dalam menghilangkan bakteri *Escherichia coli* dalam instalasi pembuangan air limbah.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, diperoleh hasil bahwa rata-rata jumlah bakteri *Escherichia coli* yang terkandung dalam sampel air sebelum memasuki Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) adalah $3,8 \times 10^4$ CFU/mL. Adapun rata-rata jumlah bakteri *Escherichia coli* yang terdapat pada sampel air setelah melalui proses pengolahan di IPAL adalah sebesar $1,35 \times 10^4$ CFU/mL. Sementara itu, total keseluruhan jumlah bakteri yang terkandung dalam sampel air sebelum memasuki IPAL adalah 41.000 CFU/mL. Sehingga didapatkan hasil bahwa sistem IPAL RSI UNISMA memiliki efektivitas eliminasi bakteri sebesar 59.7%. Persentase efektivitas sistem IPAL dalam mengeliminasi bakteri *Escherichia coli* pada penelitian ini menunjukkan hasil yang berbeda secara signifikan jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Pada studi terdahulu, dilaporkan bahwa sistem IPAL mampu mengeliminasi bakteri *Escherichia coli* hingga mencapai 83% dari total populasi bakteri tersebut (23).

Terdapat standar yang mengatur mengenai tingkat bakteri *Escherichia coli* yang siap disalurkan menuju pengolahan limbah domestik. Standar ini ditetapkan oleh Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia melalui Peraturan Menteri Nomor P.68/Menlhk-Setjen/2016 serta Badan Perlindungan Lingkungan (23). 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 Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL). Batas maksimum tersebut ditetapkan sebesar 30 CFU/mL (24).

Profil Sensitivitas Antibiotik Bakteri *Escherichia coli*

Dalam penelitian ini, uji sensitivitas antibiotik dilakukan menggunakan metode Kirby-Bauer untuk mengevaluasi respons *Escherichia coli* terhadap Ampicilin, Gentamicin, Meropenem, dan Ciprofloxacin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari total 17 koloni *Escherichia coli* yang diuji, semua koloni yang berasal dari sampel pre-IPAL menunjukkan sensitivitas terhadap Meropenem. Untuk Ampicilin, 53% ($n=9$) *sensitive*, 12% ($n=2$) *intermediate*, dan 35% ($n=6$) *resisten*. Untuk Ciprofloxacin, 53% ($n=9$) *sensitive* dan 47% ($n=8$) *intermediate*. Sedangkan terhadap Gentamicin, 94% ($n=16$) *sensitive* dan 6% ($n=1$) *intermediate*. Hal ini menunjukkan masih adanya bakteri *Escherichia coli* yang *resisten* antibiotik ikut tersebar menuju limbah air rumah sakit.

Koloni *Escherichia coli* yang diperoleh dari sampel limbah air post-IPAL ($n=17$), menunjukkan perubahan dalam tingkat sensitivitas terhadap antibiotik. Hasil menunjukkan bahwa untuk Meropenem, 76% ($n=13$) *sensitive* dan 24% ($n=4$) *intermediate*. Untuk Ampicilin, 24% ($n=4$) menunjukkan *sensitive*, 12% ($n=2$) *intermediate*, dan 65% *resisten*. Untuk Ciprofloxacin, 65% ($n=11$) *sensitive* dan 35% ($n=6$) *intermediate*. Sementara untuk Gentamicin, 94% ($n=16$) *sensitive* dan 6% ($n=1$) *resisten*. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi perubahan sensitivitas bakteri *Escherichia coli* terhadap antibiotik selama bakteri melewati sistem pengolahan limbah air rumah sakit.

Resistensi yang dialami oleh bakteri *Escherichia coli* dapat disebabkan oleh faktor internal maupun eksternal. Salah satu faktor eksternal yang memicu munculnya resistensi terhadap antibiotik adalah keberadaan senyawa mikropolutan dan karbon dalam limbah air. Senyawa-senyawa tersebut mendorong bakteri untuk mengadaptasi diri dengan cara mengaktifkan respon stres. Respon stres ini merupakan mekanisme pertahanan bakteri untuk melindungi diri dari kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan. Melalui proses adaptasi ini, bakteri dapat mengembangkan ketahanan terhadap antibiotik dan menjadi lebih resisten (25).

Ketika menghadapi stres yang diinduksi oleh lingkungan, bakteri akan melakukan adaptasi dengan membentuk mekanisme proteksi. Mekanisme proteksi ini diatur melalui beberapa tingkatan, mulai dari tingkat transkripsi, translasi, hingga post-translasi. Proses ini menyebabkan perubahan dalam ekspresi genetik, aktivitas protein, dan metabolisme seluler pada bakteri. Perubahan-perubahan tersebut memungkinkan terbentuknya resistensi terhadap antibiotik. Dengan kata lain, bakteri mampu mengembangkan ketahanan terhadap antibiotik melalui pengaturan ekspresi gen, modifikasi protein, dan penyesuaian metabolisme seluler sebagai respons terhadap stres lingkungan yang dihadapi (26).

Selain faktor yang telah disebutkan sebelumnya, tingginya kadar antibiotik dalam limbah air rumah sakit juga dapat menginduksi terjadinya resistensi antibiotik pada bakteri. Hal ini disebabkan oleh adanya fenomena yang disebut *antibiotic selective pressure*. Dalam kondisi ini, bakteri akan terpapar antibiotik dalam konsentrasi tinggi, sehingga bakteri yang mampu mengembangkan resistensi akan bertahan hidup. Sebaliknya, bakteri yang tidak mampu beradaptasi dengan menginduksi resistensi akan mengalami kematian. Proses seleksi ini menyebabkan bakteri yang resisten terhadap antibiotik dapat berkembang dan menjadi dominan dalam populasi bakteri (27).

Keberadaan sistem pengolahan air limbah (IPAL) yang tidak efektif dapat menyebabkan senyawa-senyawa dalam limbah air tidak dapat dieliminasi dengan baik. Kondisi ini berpotensi menginduksi terjadinya resistensi terhadap antibiotik pada bakteri, bahkan setelah melewati proses pengolahan di IPAL. Senyawa-senyawa yang tidak tereliminasi secara optimal dapat memicu adaptasi bakteri untuk mengembangkan mekanisme pertahanan berupa resistensi terhadap antibiotik. Oleh karena itu, diperlukan sistem IPAL yang efektif agar limbah air dapat diolah dengan baik, sehingga risiko terbentuknya resistensi antibiotik pada bakteri dapat diminimalkan.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan keberadaan bakteri Gram negatif, yaitu *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Enterobacter sp.*, dalam limbah air sebelum dan sesudah memasuki pengolahan di Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL). Di antara bakteri-bakteri tersebut, *Escherichia coli* menjadi fokus identifikasi yang menyeluruh dalam penelitian ini. Meskipun jumlah *Escherichia coli* dalam limbah air post IPAL lebih rendah dibandingkan dengan pre IPAL, konsentrasinya masih melebihi ambang batas yang ditetapkan. Analisis sensitivitas antibiotik menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* yang didapatkan pada penelitian ini lebih sensitif terhadap antibiotik Meropenem dan cenderung kurang sensitif atau resisten terhadap antibiotik Ampicillin.

SARAN

Penelitian ini memiliki kekurangan berupa fokus analisa yang hanya mencakup bakteri Gram negatif, tanpa mempertimbangkan bakteri Gram positif. Untuk penelitian selanjutnya, disarankan agar analisa bakteri pada limbah air rumah sakit diperluas mencakup bakteri Gram negatif dan positif. Selain itu, peneliti merekomendasikan adanya peningkatan dan/atau penambahan prosedur dalam sistem Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) guna meningkatkan efektivitasnya dalam mengeliminasi bakteri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Saya mengucapkan terima kasih kepada beberapa pihak yang telah berkontribusi dalam pelaksanaan penelitian ini. Pertama, kepada Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang atas kesempatan yang diberikan untuk melaksanakan penelitian. Kedua, kepada Ikatan Orangtua Mahasiswa (IOM) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang atas dukungan pendanaan yang disediakan. Terakhir, saya juga berterima kasih kepada Dr. dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes. yang telah berperan sebagai *reviewer* dalam proses penyusunan dan penulisan jurnal ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Khan HA, Baig FK, Mehboob R. Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pac J Trop Biomed* [Internet]. 2017;7(5):478–82. Tersedia pada: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.01.019>
2. Endraswari P, Mertaniasih NM, Setiawan F, Paramita AL. Epidemiology of *Escherichia coli* as a Critical Pathogen of Bloodstream Infection Patients in Tertiary Referral Hospital. *Indones J Trop Infect Dis*. 2022;10(3):205–13.
3. Basavaraju M, Gunashree BS. *Escherichia coli* : An Overview of Main Characteristics . *Escherichia coli - Old New Insights*. 2023;(November).
4. Davidova-Gerzova L, Lausova J, Sukkar I, Nesporova K, Nechutna L, Vlkova K, et al. Hospital and community wastewater as a source of multidrug-resistant ESBL-producing *Escherichia coli*. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023;13(May):1–11.
5. Kaur, Bhoomika Yadav RDT. Microbiology of hospital wastewater. *Microbiol Hosp wastewater Rajwinder*. 2020;10(1):54–75.
6. Barancheshme F, Munir M. Strategies to combat antibiotic resistance in the wastewater treatment plants. *Front Microbiol*. 2018;8(JAN).
7. Lépesová K, Olejníková P, Tomáš. M, Cverenkárová K, Krahulcová M, Bírošová L. Hospital Wastewater — Important Source of Multidrug Resistant Coliform Bacteria with ESBL-Production. 2020;
8. Egbenyah F, Udofia EA, Ayivor J, Osei MM, Tetteh J, Tetteh-Quarcoop PB, et al. Disposal habits and microbial load of solid medical waste in sub-district healthcare facilities and households in Yilo-Krobo municipality, Ghana. *PLoS One* [Internet]. 2021;16(12 December 2021):1–16. Tersedia pada: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0261211>
9. Kementerian Lingkungan Hidup Republik

- Indonesia. Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Republik Indonesia. Kementerian Lingkungan Hidup Republik Indonesia. 2014;13(April):15–38.
10. Roulová N, Mot'ková P, Brožková I, Pejchalová M. Antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospital wastewater in the Czech Republic. *J Water Health*. 2022;20(4):692–701.
 11. Hudzicki J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol Author Information. *Am Soc Microbiol* [Internet]. 2012;(December 2009):1–13. Tersedia pada: <https://www.asm.org/Protocols/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Pro>
 12. Jufri RF. Microbial Isolation. *J La Lifesci*. 2020;1(1):18–23.
 13. Wasistha WB, Putri CDR, Airlangga RMH. Sebaran Bakteri dan Profil Resistensi Antibiotik *Enterobacter* sp. pada Saluran Pembuangan Air di Rumah Sakit Islam Universitas Islam Malang. 2024;
 14. CHROMEagar. CHROMagar TM Staph . aureus I nstructions F or U se Available in several languages NT-EXT-005. 1940;33(0):1–3.
 15. Allen ME. MacConkey Agar Plates Protocols. *ASM microbelibrary* [Internet]. 2013;(September 2005):1. Tersedia pada: <http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/2855-macconkey-agar-plates-protocols>
 16. Smith A, Hussey M. Gram Stain Protocols. *Am Soc Microbiol* [Internet]. 2016;(September 2020):1–9. Tersedia pada: <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://asm.org/getattachment/5c95a063-326b-4b2f-98ce-001de9a5ece3/gram-stain-protocol-2886.pdf&ved=2ahUKEwiO5pPn6omFAxUM2DgGHUvMBiwQFnoECCoQAQ&usg=AOvVaw1-NVEcOxHCNBqEerbZUHJO>
 17. Schwalbe R, Steele-moore L, C.goodwin A. Antimicrobial susceptibility testing protocols. *Экономика Региона*. 2007. 32 hal.
 18. Slekovec C, Plantin J, Cholley P, Thouverez M, Talon D, Bertrand X, et al. Tracking Down Antibiotic-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolates in a Wastewater Network. *PLoS One*. 2012;7(12).
 19. Putra ADS, Putri CDR, Airlangga RMH. Sebaran Bakteri dan Profil Resistensi Antibiotik *Pseudomonas aeruginosa* pada Saluran Pembuangan Air di Rumah Sakit Islam Universitas Islam Malang.pdf. 2024;
 20. Asfaw T, Negash L, Kahsay A, Weldu Y. Antibiotic Resistant Bacteria from Treated and Untreated Hospital Wastewater at Ayder Referral Hospital, Mekelle, North Ethiopia. *Adv Microbiol*. 2017;07(12):871–86.
 21. Yuan T, Pian Y. Hospital wastewater as hotspots for pathogenic microorganisms spread into aquatic environment: A review. *Front Environ Sci*. 2023;10(January):1–10.
 22. Yao S, Ye J, Yang Q, Hu Y, Zhang T, Jiang L, et al. Occurrence and removal of antibiotics, antibiotic resistance genes, and bacterial communities in hospital wastewater. *Environ Sci Pollut Res*. 2021;28(40):57321–33.
 23. Lathifah AN, Emeraldine AC, Fatika SA, Yulianto A, Isnikarita R. Effectiveness of communal wastewater treatment plant in peri-urban Yogyakarta, Indonesia, for *Escherichia coli* removal. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2023;1263(1).
 24. Kementerian Lingkungan Hidup. Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia Nomor : P.68/Menlhk/Setjen/Kum.1/8/2016. In 2016. hal. 10–27.
 25. Izabel-Shen D, Li S, Luo T, Wang J, Li Y, Sun Q, et al. Repeated introduction of micropollutants enhances microbial succession despite stable degradation patterns. *ISME Commun*. 2022;2(1).
 26. Dawan J, Ahn J. Bacterial Stress Responses as Potential Targets in Overcoming Antibiotic Resistance. *Microorganisms*. 2022;10(7).
 27. Tello A, Austin B, Telfer TC. Selective pressure of antibiotic pollution on bacteria of importance to public health. *Environ Health Perspect*. 2012;120(8):1100–6.