

PERBANDINGAN KUALITAS AIR LIMBAH PRE-IPAL DAN POST-IPAL PADA RUMAH SAKIT TIPE C MALANG BERDASARKAN PARAMETER BIOLOGI BAKTERI GRAM POSITIF DAN GRAM NEGATIF

Aulia Rohzatus Sabillah, Citra Destya Rahma Putri*, Raden Muhammad Hardadi Airlangga**#

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, ** Pusat Studi Integrasi Kedokteran Islam, Bioinformatika dan Obat Tradisional Indonesia (PSIKIBiOTI)

ABSTRAK

Pendahuluan: Air limbah rumah sakit mengandung bakteri yang berpotensi mencemari lingkungan. Penelitian ini bertujuan membandingkan jumlah total bakteri, bakteri Gram positif dan Gram negatif, serta jenis bakteri pada air limbah pre-IPAL dan post-IPAL rumah sakit tipe C di Malang.

Metode: Penelitian eksperimental *in vitro* menggunakan sampel pre-IPAL dan post-IPAL. Kultur dilakukan pada *Nutrient Agar*, *Mannitol Salt Agar*, dan *MacConkey Agar*, dilanjutkan pewarnaan Gram dan uji biokimia. Data dianalisis menggunakan *Wilcoxon Signed-Rank Test*.

Hasil dan Pembahasan: Rerata total bakteri menurun dari $1,09 \times 10^5$ menjadi $3,44 \times 10^3$ CFU/mL ($p=0,008$; 96,84%), bakteri Gram positif dari $4,68 \times 10^1$ menjadi $3,76 \times 10^0$ CFU/mL ($p=0,012$; 91,97%), bakteri Gram negatif *lactose fermenter* (LF) dari $6,37 \times 10^3$ menjadi $6,35 \times 10^1$ CFU/mL ($p=0,008$; 99,00%), dan *non-lactose fermenter* (NLF) dari $3,17 \times 10^3$ menjadi $3,34 \times 10^2$ CFU/mL ($p=0,008$; 89,45%). *Staphylococcus aureus* dan *coagulase-negative Staphylococci* (CoNS) ditemukan pada pre-IPAL dan post-IPAL. Bakteri Gram negatif yang teridentifikasi meliputi *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Stenotrophomonas maltophilia* pada pre-IPAL serta *Enterobacter* sp., *P. aeruginosa*, dan *Salmonella* sp. pada post-IPAL.

Simpulan: Terdapat perbedaan bermakna kualitas mikrobiologis air limbah pre-IPAL dan post-IPAL berdasarkan jumlah total bakteri, bakteri Gram positif, serta bakteri Gram negatif kelompok *lactose fermenter* (LF) dan *non-lactose fermenter* (NLF), dengan jumlah bakteri yang lebih rendah pada post-IPAL. Meskipun demikian, beberapa jenis bakteri masih teridentifikasi pada post-IPAL.

Kata Kunci: air limbah rumah sakit, bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif, *lactose fermenter*, *non-lactose fermenter*

#Penulis Korespondensi: Raden Muhammad Hardadi Airlangga (wisudawardana@gmail.com)

Jl. M.T. Haryono 193, Kota Malang, 65144

COMPARISON OF WASTEWATER QUALITY IN PRE AND POST-HOSPITAL AIR LIMBAH TREATMENT PLANT (WWTP) IN A TYPE C HOSPITAL IN MALANG BASED ON BIOLOGICAL PARAMETERS OF GRAM-POSITIVE AND GRAM-NEGATIVE BACTERIA

Aulia Rohzatus Sabillah, Citra Destya Rahma Putri*, Raden Muhammad Hardadi Airlangga**#

*Faculty of Medicine, Universitas Islam Malang, ** Center for the Integration of Islamic Medicine, Bioinformatics, and Indonesian Traditional Medicine (CIIMBITM)

ABSTRACT

Background: Hospital wastewater contains bacteria that may contaminate the environment. This study compared total, Gram-positive, and Gram-negative bacterial counts and identified bacteria in pre- WWTP and post-WWTP wastewater from a type C hospital in Malang.

Methods: This *in vitro* experimental study cultured pre- WWTP and post-WWTP samples on *Nutrient Agar*, *Mannitol Salt Agar*, and *MacConkey Agar*, followed by Gram staining and biochemical tests. Data were analyzed using the *Wilcoxon Signed-Rank Test*.

Results and Discussion: The mean total bacterial count decreased from 1.09×10^5 to 3.44×10^3 CFU/mL ($p=0.008$; 96.84%), Gram-positive bacteria from 4.68×10^1 to 3.76×10^0 CFU/mL ($p=0.012$; 91.97%), Gram-negative lactose fermenters (LF) from 6.37×10^3 to 6.35×10^1 CFU/mL ($p=0.008$; 99.00%), and non-lactose fermenters (NLF) from 3.17×10^3 to 3.34×10^2 CFU/mL ($p=0.008$; 89.45%). *Staphylococcus aureus* and *coagulase-negative Staphylococci* (CoNS) were identified in pre- WWTP and post-WWTP wastewater. Identified Gram-negative bacteria included *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Stenotrophomonas maltophilia* in pre-WWTP, and *Enterobacter* sp., *P. aeruginosa*, and *Salmonella* sp. in post-WWTP wastewater.

Conclusion: Microbiological wastewater quality differed significantly between pre-WWTP and post-WWTP based on the bacterial counts studied, with lower counts post-WWTP although several bacteria remained detectable.

Keywords: hospital wastewater, Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria, lactose fermenter, non-lactose fermenter.

#Corresponding author: Raden Muhammad Hardadi Airlangga (wisudawardana@gmail.com)

Jl. M.T. Haryono 193, Kota Malang, 65144

PENDAHULUAN

Air limbah rumah sakit berasal dari berbagai aktivitas pelayanan medis dan kegiatan penunjang yang menghasilkan kontaminan dengan karakteristik beragam (1). Selain bahan organik dan senyawa kimia, air limbah rumah sakit dapat mengandung residu antibiotik, disinfektan, serta bakteri patogen dan bakteri resisten antibiotik yang berpotensi mencemari lingkungan dan menimbulkan risiko kesehatan masyarakat (2).

Pengolahan melalui Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) bertujuan mengurangi kandungan kontaminan sebelum air limbah dibuang ke lingkungan. Namun, sejumlah penelitian pada rumah sakit tipe C di Malang masih menemukan bakteri Gram negatif, seperti *Escherichia coli*, *Enterobacter* sp., dan *Pseudomonas aeruginosa*, setelah proses pengolahan (3,4,5). Penelitian lainnya juga melaporkan bahwa bakteri Gram negatif yang resisten terhadap antibiotik seftriakson dan siprofloksasin masih ditemukan pada air limbah post-IPAL (6).

Keberadaan bakteri resisten antibiotik dalam air limbah rumah sakit berpotensi mendukung penyebaran gen resistensi antarbakteri melalui mekanisme *horizontal gene transfer* (HGT), sehingga meningkatkan risiko penyebaran resistensi antibiotik di lingkungan (7). Risiko kesehatan akibat keberadaan bakteri Gram negatif dalam air limbah yang tidak dikelola secara memadai juga dilaporkan oleh Yan *et al.*, yang mengidentifikasi keterkaitan *Salmonella Paratyphi A* dari air limbah rumah sakit dengan kejadian wabah demam paratifoid (8).

Di Indonesia, pemantauan kualitas mikrobiologis air limbah menggunakan parameter Total Koliform, dengan batas maksimum 3.000 MPN/100 mL (9). Namun, parameter tersebut belum menggambarkan seluruh kelompok bakteri yang berpotensi terdapat dalam air limbah rumah sakit, termasuk bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif non-koliform.

Berdasarkan kondisi tersebut, diperlukan pemeriksaan mikrobiologis yang tidak hanya berfokus pada bakteri indikator, tetapi juga mencakup jumlah total bakteri serta kelompok bakteri Gram positif dan Gram negatif. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan membandingkan jumlah total bakteri, jumlah bakteri Gram positif, serta bakteri Gram negatif kelompok *lactose fermenter* (LF) dan *non-lactose fermenter* (NLF), sekaligus mengidentifikasi jenis bakteri yang ditemukan pada air limbah pre-IPAL dan post-IPAL rumah sakit tipe C di Malang.

METODE

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental laboratorium secara *in vitro* untuk membandingkan jumlah bakteri pada air limbah pre-IPAL dan post-IPAL rumah sakit tipe C di Malang. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pusat Riset

Kedokteran Universitas Islam Malang (LPRK UNISMA) pada Januari–Februari 2026 dan telah memperoleh persetujuan etik No. 79/KEPK/RSI-U/XI/2025.

Subyek/Sample Penelitian

Sampel berupa air limbah rumah sakit tipe C di Malang yang diambil pada titik pre-IPAL dan post-IPAL sebanyak sembilan kali pengambilan. Pengamatan mencakup jumlah total bakteri, bakteri Gram positif, dan bakteri Gram negatif kelompok *lactose fermenter* (LF) dan *non-lactose fermenter* (NLF) yang tumbuh pada media kultur.

Kultur dan Perhitungan Koloni Bakteri

Sampel diencerkan secara bertingkat menggunakan salin steril pada pengenceran 10^0 , 10^{-1} , dan 10^{-2} , kemudian diinokulasikan pada media *Nutrient Agar* (NA), *Mannitol Salt Agar* (MSA), dan *MacConkey Agar* (MCA). Kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 18–24 jam. Jumlah koloni dihitung menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) dengan rumus:

$$n(\text{CFU/mL}) = \frac{(\Sigma \text{ Koloni})}{\text{Faktor Pengenceran} \times \text{Volume Inokulum (mL)}}$$

Pengamatan makroskopis dilakukan pada masing-masing media. Koloni pada MSA dibedakan berdasarkan fermentasi manitol, sedangkan koloni pada MCA dikelompokkan menjadi *lactose fermenter* (LF) dan *non-lactose fermenter* (NLF) berdasarkan kemampuan fermentasi laktosa (10).

Identifikasi Bakteri Menggunakan Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan pada preparat koloni yang telah difiksasi, kemudian diberi *crystal violet* dan lugol masing-masing selama satu menit, dilanjutkan dekolorisasi menggunakan alkohol 96% dan pewarnaan safranin selama 30–60 detik (10). Preparat diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran $1.000\times$ untuk membedakan bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Uji Biokimia Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

Identifikasi bakteri Gram negatif dilakukan menggunakan uji oksidase, IMViC, dan *Triple Sugar Iron* (TSI). Uji indol dilakukan pada media *Sulfide Indole Motility* (SIM) dengan metode tusukan dan diinkubasi pada suhu $35\text{--}37^{\circ}\text{C}$ selama 24–48 jam. Pembentukan gas juga diamati pada media SIM (11). Uji *Methyl Red* (MR) dan *Voges-Proskauer* (VP) dilakukan menggunakan media MR-VP, sedangkan uji sitrat menggunakan media *Simmons Citrate*. Uji TSI dilakukan dengan metode gores dan tusuk, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24–48 jam untuk mengamati fermentasi gula, pembentukan gas, dan produksi H_2S (12).

Identifikasi bakteri Gram positif dilakukan menggunakan uji katalase dan koagulase untuk membantu membedakan isolat bakteri, khususnya kelompok *Staphylococcus* (13). Kriteria interpretasi hasil uji biokimia disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Keterangan Interpretasi Hasil Uji Biokimia

Uji	Hasil Positif (+)	Hasil Negatif (-)
Oksidase	Strip berubah ungu	Tidak berubah ungu
A/A	<i>acid slant/acid butt</i> (kuning/kuning)	—
K/A	<i>alkaline slant/acid butt</i> (merah/kuning)	—
K/K	<i>alkaline slant/alkaline butt</i> (merah/merah)	—
TSI	<i>alkaline slant/no change butt</i> (merah/tidak berubah)	—
Gas	Media retak/terangkat, terbentuk gelembung	Tidak retak/terangkat, tidak terbentuk gelembung
H ₂ S	Terbentuk endapan hitam	Tidak terbentuk endapan
Indole (SIM)	Terbentuk cincin merah	Tidak terbentuk cincin
Gas pada <i>Indole</i> (SIM)	Media retak/terangkat	Tidak retak/terangkat
IMViC	<i>Methyl Red</i> (MR)	Media merah
	<i>Voges-Proskauer</i> (VP)	Media kuning-oranye
	<i>Citrate</i>	Media merah
Katalase	Media biru	Tidak berubah warna
Koagulase	Terbentuk gelembung	Tidak terbentuk gelembung
	Terbentuk koagulum/penggumpalan plasma	Plasma tetap cair

Perhitungan Persentase Penurunan Jumlah Bakteri

Persentase penurunan jumlah bakteri antara air limbah pre-IPAL dan post-IPAL dihitung berdasarkan rerata jumlah total bakteri, bakteri Gram positif, serta bakteri Gram negatif kelompok *lactose fermenter* (LF) dan *non-lactose fermenter* (NLF) menggunakan rumus berikut:

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

Analisa Data

Data jumlah total bakteri, bakteri Gram positif, serta bakteri Gram negatif kelompok *lactose fermenter* (LF) dan *non-lactose fermenter* (NLF) ditransformasikan ke dalam bentuk $\log_{10}(\text{CFU}+1)$ dan dianalisis menggunakan *IBM SPSS Statistics for Windows*. Uji normalitas dilakukan menggunakan *Shapiro-Wilk*, dilanjutkan dengan *Wilcoxon Signed-Rank Test* karena data tidak berdistribusi normal. Uji

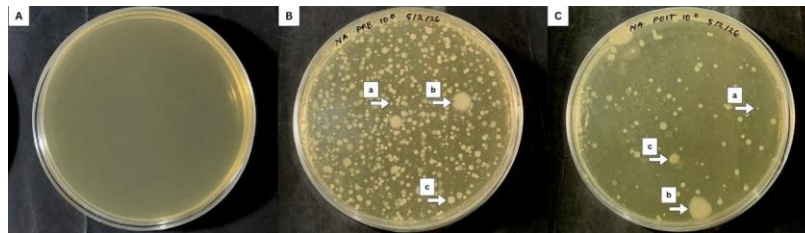
dilakukan dengan membandingkan jumlah koloni bakteri pada sampel pre IPAL dan post IPAL.

HASIL DAN ANALISA DATA

Hasil Kultur dan Karakteristik Morfologi Bakteri

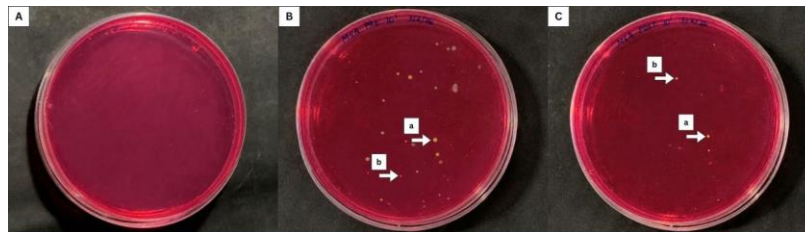
Hasil kultur air limbah pre-IPAL dan post-IPAL menunjukkan pertumbuhan koloni pada media *Nutrient Agar* (NA), *Mannitol Salt Agar* (MSA), dan *MacConkey Agar* (MCA). Media NA digunakan untuk mengamati total bakteri, MSA untuk bakteri Gram positif toleran garam, dan MCA untuk bakteri Gram negatif berdasarkan fermentasi laktosa. Hasil kultur disajikan pada **Gambar 1–3**.

Karakteristik makroskopis koloni diamati berdasarkan warna, bentuk, elevasi, tepi, dan diameter, dengan hasil disajikan pada **Tabel 1**. Pengamatan mikroskopis melalui pewarnaan Gram dilakukan untuk mengonfirmasi sifat Gram bakteri, dengan hasil disajikan pada **Gambar 4**.



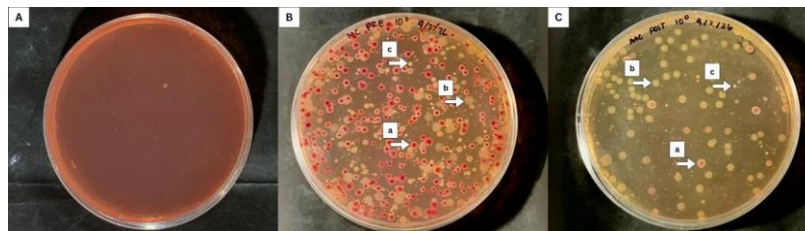
Gambar 1. Hasil Kultur Total Bakteri pada Media *Nutrient Agar* (NA)

Keterangan: (A) Kontrol tanpa pertumbuhan; (B) pre-IPAL; (C) post-IPAL. a = koloni putih kecil; b = koloni putih tebal; c = koloni translusen.



Gambar 2. Hasil Kultur Bakteri Gram Positif pada Media *Mannitol Salt Agar* (MSA)

Keterangan: (A) Kontrol tanpa pertumbuhan; (B) pre-IPAL; (C) post-IPAL. a = koloni kuning; b = koloni putih.



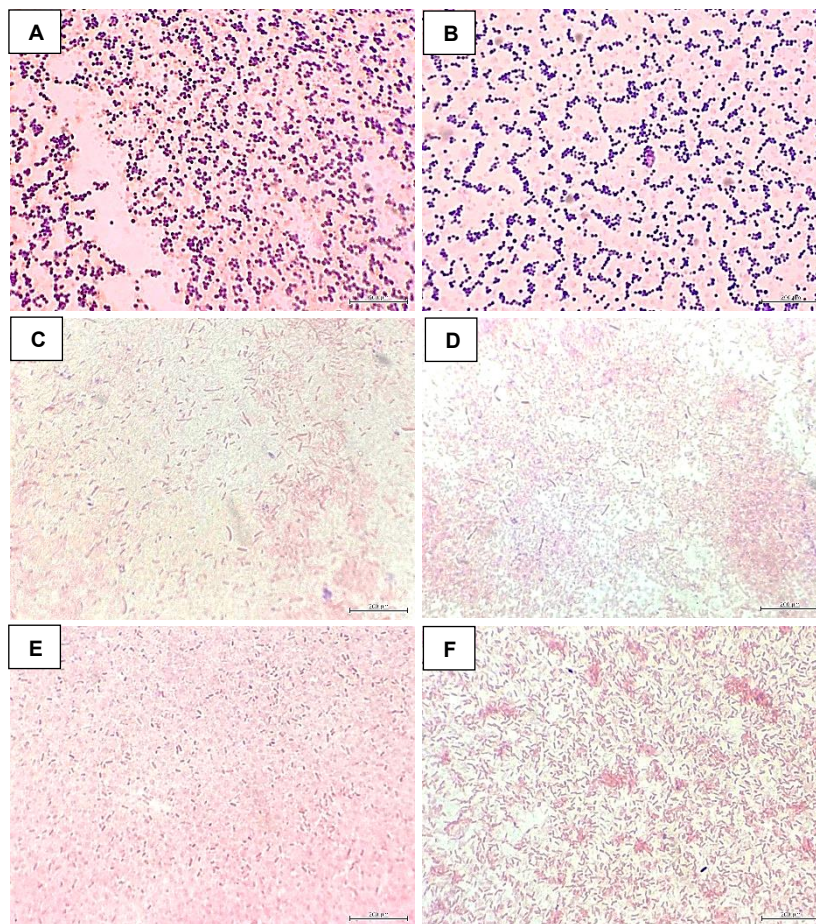
Gambar 3. Hasil Kultur Bakteri Gram Negatif pada Media *MacConkey Agar* (MCA)

Keterangan: (A) Kontrol tanpa pertumbuhan; (B) pre-IPAL; (C) post-IPAL. a = LF (merah muda–merah); b = NLF (putih kecil, tepi mulus); c = NLF (putih besar, tepi bergerigi).

Tabel 1. Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri Makroskopik pada Media Kultur

Media	Tipe Koloni	Warna	Bentuk	Elevasi	Tepi	Diameter Koloni
NA	Putih kecil	Putih <i>opaque</i>	<i>Circular</i> (bulat)	<i>Flat</i> (datar)	<i>Entire</i> (rata)	± 1-2 mm
	Putih tebal	Putih <i>opaque</i>	<i>Circular</i> (bulat)	<i>Convex</i> (cembung)	<i>Entire</i> (rata)	± 2-4 mm
	Translusen	Semi- transparan	<i>Circular</i> (bulat)	<i>Flat</i> (datar)	<i>Undulate</i> (bergelombang)	± 3-4 mm
MSA	Koloni Kuning	Kuning	<i>Circular</i> (bulat)	<i>Slightly convex</i>	<i>Entire</i> (rata)	± 0,5-1 mm
	Koloni putih	Putih <i>opaque</i>	<i>Circular</i> (bulat)	<i>Slightly convex</i>	<i>Entire</i> (rata)	± 0,5-1 mm
MCA	LF	Merah muda-merah	<i>Circular</i> (bulat)	<i>Convex</i> (cembung)	<i>Entire</i> (rata)	± 2-3 mm
	NLF	Pucat- translusen	<i>Circular</i> (bulat)	<i>Flat</i> (datar)	<i>Undulate</i> (bergelombang)	± 3-5 mm

Keterangan: NA = *Nutrient Agar*; MSA = *Mannitol Salt Agar*; MCA = *MacConkey Agar*; LF = *lactose fermenter*; NLF = *non-lactose fermenter*.



Gambar 4. Hasil Pewarnaan Gram Koloni Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

Keterangan: (A) Gram positif pre-IPAL; (B) Gram positif post-IPAL; (C) LF pre-IPAL; (D) LF post-IPAL; (E) NLF pre-IPAL; (F) NLF post-IPAL.

Hasil Perhitungan Bakteri

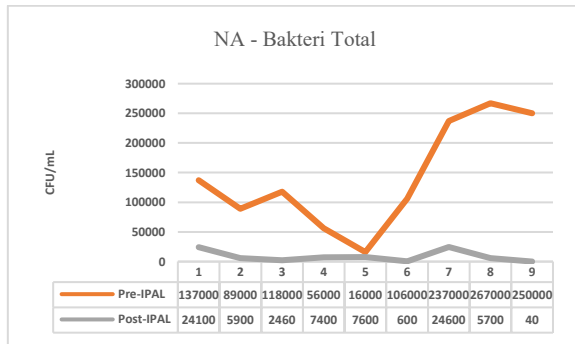
Jumlah bakteri pada masing-masing media dihitung dalam satuan CFU/mL dan dianalisis untuk membandingkan sampel pre-IPAL dan post-IPAL. Hasil perhitungan, analisis statistik, dan persentase penurunan jumlah bakteri disajikan pada **Tabel 2**.

Pola perubahan jumlah total bakteri, bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif *lactose fermenter* (LF), dan *non-lactose fermenter* (NLF) pada setiap waktu pengambilan sampel masing-masing disajikan pada **Gambar 5–8**.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Bakteri

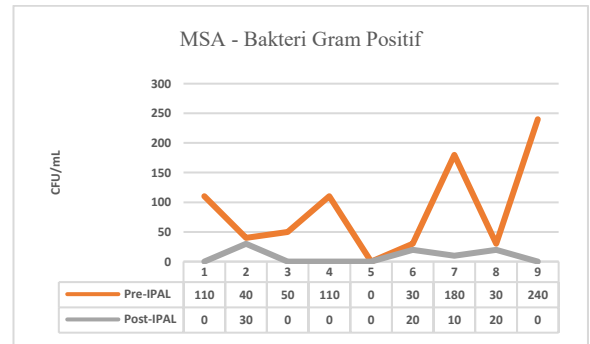
Media	Kelompok Koloni	Pre-IPAL (n = 9) Rerata ± SD CFU/mL	Post-IPAL (n = 9) Rerata ± SD CFU/mL	Signifikansi (p-value)	Persentase Penurunan
NA	Total	$1,09 \times 10^5 \pm 1,43 \times 10^0$	$3,44 \times 10^3 \pm 6,43 \times 10^0$	0,008	96,84%
MSA	KGP	$4,68 \times 10^1 \pm 5,09 \times 10^0$	$3,76 \times 10^0 \pm 4,92 \times 10^0$	0,012	91,97%
MCA	LF	$6,37 \times 10^3 \pm 2,08 \times 10^0$	$6,35 \times 10^1 \pm 1,36 \times 10^1$	0,008	99%
	NLF	$3,17 \times 10^3 \pm 2,40 \times 10^0$	$3,34 \times 10^2 \pm 1,55 \times 10^1$	0,008	89,45%

Keterangan: NA = Nutrient Agar; MSA = Mannitol Salt Agar; MCA = MacConkey Agar; LF = *lactose fermenter*; NLF = *non-lactose fermenter*; KGP = kelompok Gram positif; CFU/mL = Colony Forming Unit per milliliter; SD = standar deviasi.



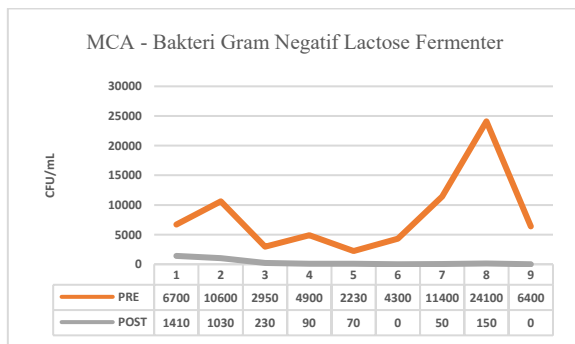
Gambar 5. Jumlah Bakteri Total pada Media Nutrient Agar

Keterangan: Gambar 5. menunjukkan perubahan jumlah total bakteri pada media *Nutrient Agar* (NA) selama sembilan kali pengambilan sampel pre-IPAL dan post-IPAL. Sumbu X menunjukkan waktu pengambilan sampel, sedangkan sumbu Y menunjukkan jumlah bakteri (CFU/mL).



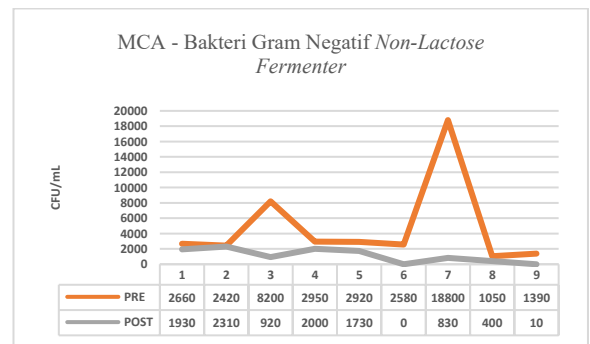
Gambar 6. Jumlah Bakteri Gram Positif pada Mannitol Salt Agar

Keterangan: Gambar 6. menunjukkan perubahan jumlah bakteri gram positif pada media *Mannitol Salt Agar* selama sembilan kali pengambilan sampel pre-IPAL dan post-IPAL. Sumbu X menunjukkan waktu pengambilan sampel, sedangkan sumbu Y menunjukkan jumlah bakteri (CFU/mL).



Gambar 7. Jumlah Bakteri Gram Negatif Lactose Fermenter pada MacConkey Agar

Keterangan: Gambar 7. menunjukkan perubahan jumlah bakteri gram negatif *Lactose Fermenter* pada media *MacConkey Agar* selama sembilan kali pengambilan sampel pre-IPAL dan post-IPAL. Sumbu X menunjukkan waktu pengambilan sampel, sedangkan sumbu Y menunjukkan jumlah bakteri (CFU/mL).



Gambar 8. Jumlah Bakteri Gram Negatif Non-Lactose Fermenter pada MacConkey Agar

Keterangan: Gambar 8. menunjukkan perubahan jumlah bakteri gram negatif *Non-Lactose Fermenter* pada media *MacConkey Agar* selama sembilan kali pengambilan sampel pre-IPAL dan post-IPAL. Sumbu X menunjukkan waktu pengambilan sampel, sedangkan sumbu Y menunjukkan jumlah bakteri (CFU/mL).

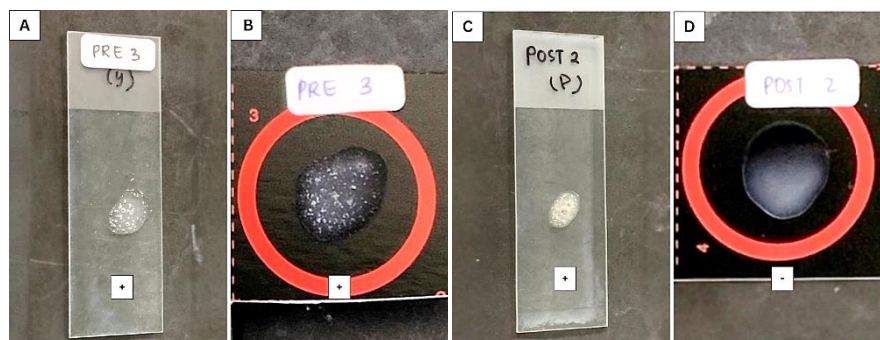
Hasil Uji Biokimia Bakteri

Identifikasi biokimia bakteri Gram positif dilakukan menggunakan uji katalase dan koagulase, dengan hasil disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 9.

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia Bakteri Gram Positif

Sampel	Isolat	Warna Koloni	Katalase	Koagulase	Hasil
PRE	Isolat 1	Putih	(+)	(-)	<i>Coagulase-negative Staphylococci</i> (CoNS)
	Isolat 2	Kuning	(+)	(+)	<i>Staphylococcus aureus</i>
POST	Isolat 1	Kuning	(+)	(+)	<i>Staphylococcus aureus</i>
	Isolat 2	Putih	(+)	(-)	<i>Coagulase-negative Staphylococci</i> (CoNS)

Keterangan: (+) = positif; (-) = negatif.



Gambar 9. Hasil Uji Biokimia Bakteri Gram Positif

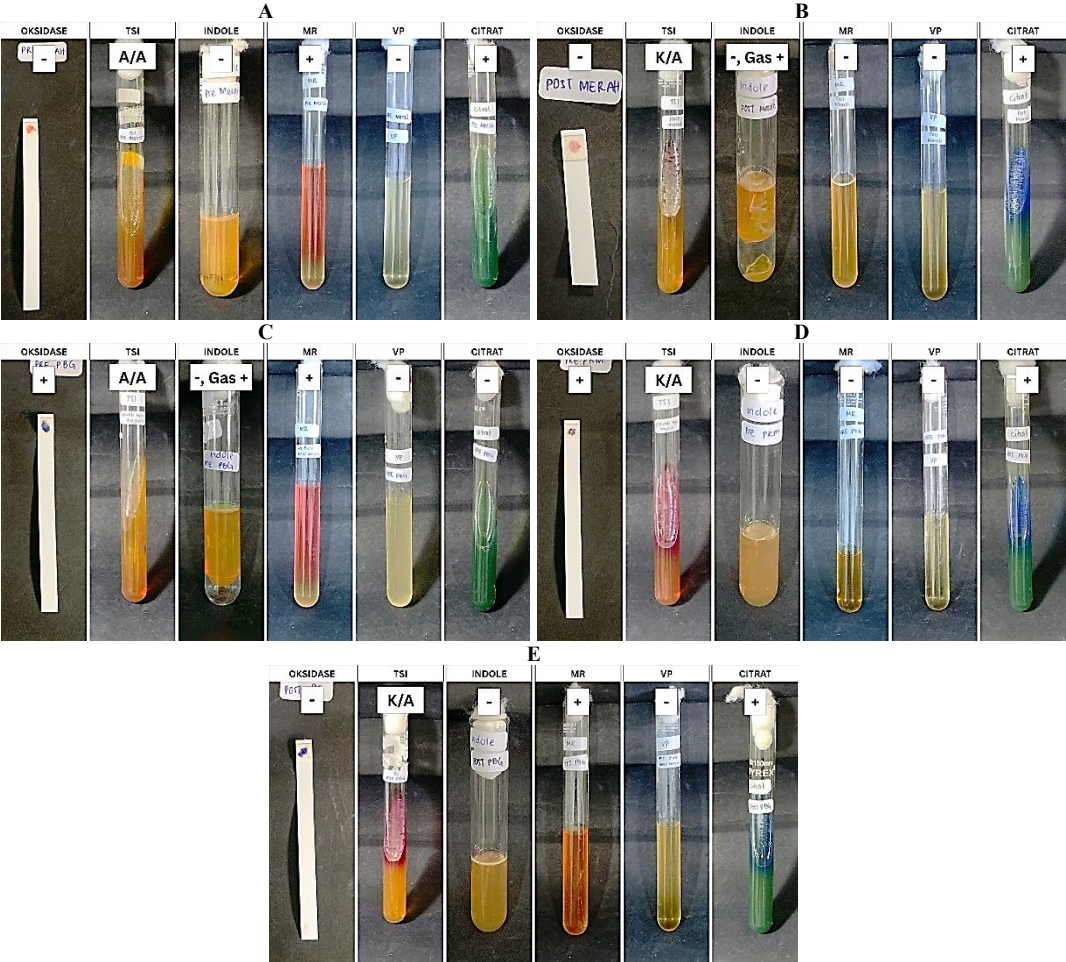
Keterangan: A = Hasil uji katalase positif; B = Hasil uji koagulase positif pada *Staphylococcus aureus*; C = Hasil uji katalase positif; D = Hasil uji koagulase negatif pada *Coagulase-negative Staphylococci* (CoNS).

Sementara itu, identifikasi bakteri Gram negatif dilakukan menggunakan uji oksidase, IMViC, dan TSI pada kelompok LF dan NLF, dengan hasil disajikan pada Tabel 4 dan Gambar 10.

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia Bakteri Gram Negatif

Sampel	Koloni	Isolat	Oksidase	TSI	IMViC				Hasil
					Indole	MR	VP	Citrat	
PRE	LF	Isolat1	(-)	A/A	(-)	(+)	(-)	(-)	<i>Escherichia coli</i>
	NLF	Isolat 1	(+)	K/A	(-)	(-)	(-)	(+)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
		Isolat 2	(+)	A/A	(-) G(+)	(+)	(-)	(-)	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
POST	LF	Isolat 1	(-)	K/A	(-) G(+)	(-)	(-)	(+)	<i>Enterobacter sp.</i>
	NLF	Isolat 1	(+)	K/A	(-)	(-)	(-)	(+)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
		Isolat 2	(-)	K/A	(-)	(+)	(-)	(+)	<i>Salmonella</i>

Keterangan: LF = *Lactose Fermenter*; NLF = *Non-Lactose Fermenter*; TSI = *Triple Sugar Iron*; MR = *Methyl Red*; VP = *Voges-Proskauer*; (+) = hasil uji positif; (-) = hasil uji negatif; G(+) = terbentuk gas; A/A = *slant* dan *butt* asam; K/A = *slant* alkali dan *butt* asam.



Gambar 10. Hasil Uji Biokimia Bakteri Gram Negatif

Keterangan: MR = Uji *Methyl Red* (MR); VP = Uji *Voges-Proskauer* (VP); A = Hasil uji biokimia bakteri *Escherichia coli*; B = Hasil uji biokimia bakteri *Enterobacter sp.*; C = Hasil uji biokimia bakteri *Stenotrophomonas maltophilia*; D = Hasil uji biokimia bakteri *Pseudomonas aeruginosa*; E = Hasil uji biokimia bakteri *Salmonella*; MR = Uji *Methyl Red*; VP = Uji *Voges-Proskauer*.

PEMBAHASAN

Jumlah Total Bakteri pada Air Limbah Pre-IPAL dan Post-IPAL

Hasil penelitian menunjukkan perbedaan bermakna jumlah total bakteri antara pre-IPAL dan post-IPAL ($p=0,008$). Rerata jumlah bakteri menurun dari $1,09 \times 10^5$ menjadi $3,44 \times 10^3$ CFU/mL, dengan persentase penurunan sebesar 96,84% atau sekitar 31,69 kali lebih rendah. Berdasarkan grafik, jumlah bakteri pre-IPAL tertinggi ditemukan pada pengambilan ke-8 (267.000 CFU/mL) dan terendah pada pengambilan ke-5 (16.000 CFU/mL), sedangkan post-IPAL tertinggi pada pengambilan ke-7 (24.600 CFU/mL) dan terendah pada pengambilan ke-9 (40 CFU/mL). Jumlah bakteri post-IPAL lebih rendah pada seluruh waktu pengambilan, meskipun besarnya penurunan bervariasi.

Variasi tersebut dapat berkaitan dengan perubahan karakteristik influen, terutama kandungan bahan organik yang meningkatkan kebutuhan klorin (*chlorine demand*) dan padatan tersuspensi yang menghambat kontak disinfektan dengan mikroorganisme (1,14). Desmadi *et al.* (15) melaporkan rerata BOD, COD, dan TSS pre-IPAL rumah sakit tipe C di Malang masing-masing sebesar 3,16 mg/L, 112,82 mg/L, dan 70,36 mg/L. Dengan penggunaan klorin sekitar 2–3 mg/L pada IPAL yang diteliti, optimalisasi penurunan beban pencemar sebelum disinfeksi menjadi penting untuk mendukung proses inaktivasi bakteri.

Mengacu pada acuan reduksi mikroorganisme dalam proses disinfeksi menurut U.S. EPA (16), penurunan 3-log₁₀ setara dengan reduksi sebesar 99,9%. Tingkat penurunan tersebut belum tercapai secara konsisten selama periode pengamatan. Interpretasi hasil ini mempertimbangkan karakteristik media *Nutrient Agar* (NA), yang mendukung pertumbuhan berbagai kelompok bakteri sesuai dengan kondisi kultur yang digunakan (10).

Variasi morfologi koloni pada media NA menunjukkan kemiripan dengan karakteristik beberapa kelompok bakteri, antara lain *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, dan *Staphylococcus* (10), yang juga banyak dilaporkan ditemukan dalam air limbah rumah sakit (17,18).

Jumlah Bakteri Gram Positif pada Air Limbah Pre-IPAL dan Post-IPAL

Hasil penelitian menunjukkan perbedaan bermakna jumlah bakteri Gram positif antara pre-IPAL dan post-IPAL ($p=0,012$). Rerata jumlah bakteri menurun dari $4,68 \times 10^1$ menjadi $3,76 \times 10^0$ CFU/mL, dengan persentase penurunan sebesar 91,97% atau sekitar 12,45 kali lebih rendah. Berdasarkan grafik, jumlah bakteri pre-IPAL tertinggi ditemukan pada pengambilan ke-9 (240 CFU/mL) dan terendah pada pengambilan ke-5 (0 CFU/mL). Sementara itu, jumlah bakteri post-IPAL

tertinggi ditemukan pada pengambilan ke-2 (30 CFU/mL) dan terendah pada pengambilan ke-1, ke-3, ke-4, ke-5, dan ke-9 (0 CFU/mL). Jumlah bakteri Gram positif cenderung lebih rendah pada post-IPAL, meskipun terdapat variasi antarwaktu pengambilan.

Variasi penurunan tersebut dapat berkaitan dengan perubahan karakteristik influen, terutama kandungan bahan organik dan padatan tersuspensi yang memengaruhi proses disinfeksi (1,14). Pemeriksaan menggunakan media *Mannitol Salt Agar* (MSA) terutama menggambarkan jumlah bakteri Gram positif yang toleran terhadap kadar garam tinggi, seperti kelompok *Staphylococcus* (10).

Hasil uji biokimia mengidentifikasi *Staphylococcus aureus* dan *coagulase-negative staphylococci* (CoNS) pada sampel pre-IPAL maupun post-IPAL. Penelitian Kusuma *et al.* (19) pada rumah sakit kelas A di Manado juga melaporkan keberadaan *Staphylococcus* spp. pada efluen serta resistensi terhadap klindamisin pada isolat yang diperiksa. Temuan tersebut menunjukkan pentingnya pemantauan bakteri Gram positif dalam air limbah rumah sakit, mengingat bakteri resisten berpotensi menjadi reservoir gen resistensi yang dapat berpindah antarbakteri melalui mekanisme *horizontal gene transfer* (HGT) (7).

Jumlah Bakteri Gram Negatif pada Air Limbah Pre-IPAL dan Post-IPAL

Hasil penelitian menunjukkan perbedaan bermakna jumlah bakteri Gram negatif kelompok *lactose fermenter* (LF) dan *non-lactose fermenter* (NLF) antara pre-IPAL dan post-IPAL ($p=0,008$). Rerata jumlah bakteri LF menurun dari $6,37 \times 10^3$ menjadi $6,35 \times 10^1$ CFU/mL, dengan persentase penurunan sebesar 99,00% atau sekitar 100,31 kali lebih rendah. Berdasarkan grafik, jumlah LF pre-IPAL tertinggi ditemukan pada pengambilan ke-8 (24.100 CFU/mL) dan terendah pada pengambilan ke-5 (2.230 CFU/mL), sedangkan post-IPAL tertinggi pada pengambilan ke-1 (1.410 CFU/mL) dan terendah pada pengambilan ke-6 dan ke-9 (0 CFU/mL).

Pada kelompok NLF, rerata jumlah bakteri menurun dari $3,17 \times 10^3$ menjadi $3,34 \times 10^2$ CFU/mL, dengan persentase penurunan sebesar 89,45% atau sekitar 9,49 kali lebih rendah. Jumlah NLF pre-IPAL tertinggi ditemukan pada pengambilan ke-7 (18.800 CFU/mL) dan terendah pada pengambilan ke-8 (1.050 CFU/mL), sedangkan post-IPAL tertinggi pada pengambilan ke-2 (2.310 CFU/mL) dan terendah pada pengambilan ke-6 (0 CFU/mL). Kedua kelompok menunjukkan jumlah bakteri post-IPAL yang lebih rendah pada seluruh waktu pengambilan, meskipun besarnya penurunan bervariasi.

Variasi tersebut dapat berkaitan dengan perubahan karakteristik influen, terutama kandungan bahan organik yang meningkatkan

kebutuhan klorin dan padatan tersuspensi yang membatasi kontak disinfektan dengan mikroorganisme (14). Secara deskriptif, persentase penurunan kelompok NLF lebih rendah dibandingkan LF. Perbedaan ini berpotensi berkaitan dengan keragaman karakteristik bakteri NLF, termasuk mekanisme pertahanan intrinsik dan kemampuan adaptasi terhadap tekanan lingkungan (20). Pemeriksaan menggunakan media *MacConkey Agar* (MCA) memungkinkan pengelompokan bakteri Gram negatif berdasarkan kemampuan fermentasi laktosa, khususnya bakteri yang mampu tumbuh pada kondisi selektif media tersebut (21).

Hasil uji biokimia mengidentifikasi *Escherichia coli* pada kelompok LF pre-IPAL dan *Enterobacter* sp. pada LF post-IPAL. Pada kelompok NLF, teridentifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dan *Stenotrophomonas maltophilia* pada pre-IPAL, sedangkan pada post-IPAL ditemukan *P. aeruginosa* dan *Salmonella* sp.

Keberadaan bakteri Gram negatif pada post-IPAL memiliki relevansi terhadap resistensi antimikroba. Achmad *et al.* (3) melaporkan resistensi *E. coli* terhadap ampicilin, gentamisin, siprofloksasin, dan meropenem, sedangkan Wasistha *et al.* (4) menemukan *Enterobacter* sp. yang resisten terhadap ampicilin. Keberadaan bakteri tersebut perlu diperhatikan karena pembentukan biofilm dapat membantu bakteri bertahan terhadap tekanan lingkungan serta mendukung perpindahan gen resistensi antibiotik antarbakteri melalui mekanisme *horizontal gene transfer* (HGT) (7).

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan bermakna jumlah total bakteri, bakteri Gram positif, serta bakteri Gram negatif kelompok *lactose fermenter* (LF) dan *non-lactose fermenter* (NLF) antara air limbah pre-IPAL dan post-IPAL pada rumah sakit tipe C di Malang. Jumlah bakteri yang lebih rendah pada post-IPAL menunjukkan adanya perbaikan kualitas mikrobiologis air limbah setelah proses pengolahan. Bakteri yang teridentifikasi meliputi *Staphylococcus aureus*, *coagulase-negative staphylococci* (CoNS), *Escherichia coli*, *Enterobacter* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, dan *Salmonella* sp. Meskipun demikian, beberapa jenis bakteri masih teridentifikasi pada post-IPAL. Temuan ini menunjukkan bahwa pengolahan air limbah mampu menurunkan jumlah bakteri, tetapi belum menghilangkan seluruh bakteri yang diteliti sehingga pemantauan kualitas mikrobiologis air limbah tetap diperlukan.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka saran yang dapat diberikan adalah sebagai berikut:

1. Rumah sakit disarankan melakukan evaluasi dan pemeliharaan IPAL secara berkala melalui pemeriksaan operasional setiap hari, pemeliharaan rutin setiap bulan, serta evaluasi menyeluruh setiap enam bulan hingga satu tahun sesuai dengan kondisi dan kapasitas pengolahan limbah. Pelaksanaannya perlu mengacu pada Pedoman Teknis Kementerian Kesehatan Republik Indonesia Tahun 2011 tentang pemeliharaan IPAL dan pemantauan kualitas air limbah.
2. Pemeriksaan bakteri Gram positif dan Gram negatif dapat dipertimbangkan sebagai pemeriksaan pendukung untuk melengkapi informasi mengenai kualitas mikrobiologis air limbah rumah sakit, tanpa menggantikan parameter baku mutu yang telah ditetapkan.
3. Penelitian selanjutnya disarankan menggunakan metode identifikasi bakteri yang lebih spesifik dan sensitif, seperti *polymerase chain reaction* (PCR), *quantitative polymerase chain reaction* (qPCR), *whole genome sequencing* (WGS), atau analisis metagenomik, untuk meningkatkan ketepatan identifikasi serta memperoleh informasi yang lebih rinci mengenai jenis dan distribusi bakteri.
4. Penelitian selanjutnya disarankan mengukur parameter operasional IPAL, seperti *hydraulic retention time* (HRT), *dissolved oxygen* (DO), dosis klorin, dan waktu kontak disinfektan, untuk mengetahui keterkaitan kondisi operasional dengan perubahan jumlah bakteri antara pre-IPAL dan post-IPAL. Penelitian mengenai kemampuan adaptasi bakteri juga dapat dilakukan untuk mengetahui faktor yang memungkinkan bakteri tetap ditemukan setelah proses pengolahan.
5. Penelitian selanjutnya disarankan memperpanjang periode pengamatan, memperluas cakupan pengambilan sampel, serta melibatkan rumah sakit dengan karakteristik yang beragam untuk memperoleh gambaran yang lebih menyeluruh mengenai variasi jumlah dan distribusi bakteri dalam air limbah rumah sakit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (FK UNISMA) dan Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) FK UNISMA yang telah mendanai penelitian dan kepada *peer reviewer* atau kepada orang dan tim yang membantu proses statistik atau proses penelitian khusus yang melibatkan hal khusus namun tidak dapat ditulis sebagai penulis jurnal.

DAFTAR PUSTAKA

1. Parida VK, Sikarwar D, Majumder A, Gupta AK. An assessment of hospital wastewater and biomedical waste generation, existing

- legislations, risk assessment, treatment processes, and scenario during COVID-19. *J Environ Manage.* 2022;308:114609. doi:10.1016/j.jenvman.2022.114609.
2. Khan MT, Shah IA, Ihsanullah I, Naushad M, Ali S, Shah SHA, et al. Hospital wastewater as a source of environmental contamination: An overview of management practices, environmental risks, and treatment processes. *J Water Process Eng.* 2021;41:101990. doi:10.1016/j.jwpe.2021.101990.
3. Achmad L, Putri CDR, Airlangga RMH. Sebaran bakteri dan profil resistensi antibiotik *Escherichia coli* pada saluran pembuangan air di rumah sakit tipe C di Malang. *J Kedokt Komunitas.* 2024;12(2).
4. Wasistha WB, Putri CDR, Airlangga MH. Sebaran bakteri dan profil resistensi antibiotik *Enterobacter* sp. pada saluran pembuangan air di salah satu rumah sakit tipe C Malang. *J Kedokt Komunitas.* 2024;12(1).
5. Putra ADS, Putri CDR, Airlangga MH. Sebaran profil bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan profil resistensi antibiotiknya pada saluran pembuangan limbah air pada salah satu rumah sakit tipe C di Malang. *J Kedokt Komunitas.* 2024;12(1).
6. Aisyah K, Putri CDR, Airlangga MH. Perbandingan jumlah dan resistensi antibiotik bakteri Gram negatif pada air limbah pre-IPAL dan post-IPAL rumah sakit tipe C di Malang. *J Kedokt Komunitas.* 2026;14(1).
7. Michaelis C, Grohmann E. Horizontal gene transfer of antibiotic resistance genes in biofilms. *Antibiotics (Basel).* 2023;12(2):328. doi:10.3390/antibiotics12020328.
8. Yan M, Yang B, Wang Z, Wang S, Zhang X, Zhou Y, et al. A large-scale community-based outbreak of paratyphoid fever caused by hospital-derived transmission in Southern China. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015;9(7):e0003859. doi:10.1371/journal.pntd.0003859.
9. Republik Indonesia. Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia Nomor P.68/MENLHK/SETJEN/KUM.1/8/2016 tentang Baku Mutu Air Limbah Domestik. Jakarta; 2016.
10. Prescott LM, Harley JP, Klein DA. *Microbiology.* 11th ed. McGraw-Hill Education; 2021.
11. Thermo Fisher Scientific. SIM medium. Thermo Fisher Scientific; 2014.
12. Cappuccino JG, Welsh CT. *Microbiology: a laboratory manual.* 12th ed. Pearson; 2020.
13. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology.* 15th ed. Elsevier; 2022.
14. Jiang Q, Li H, Wan K, Ye C, Yu X. Quantification and antibiotic resistance risk assessment of chlorination-residual viable/VBNC *Escherichia coli* and *Enterococcus* in on-site hospital wastewater treatment system. *Sci Total Environ.* 2023;872:162139. doi:10.1016/j.scitotenv.2023.162139.
15. Desmadi ARP, Putri CDR, Airlangga RMH. Hubungan jumlah pasien masuk rumah sakit pada perubahan nilai parameter kualitas air limbah pre-IPAL dan post-IPAL di rumah sakit tipe C Kota Malang. *J Kedokt Komunitas.* 2026;14(2).
16. United States Environmental Protection Agency. Disinfection profiling and benchmarking: technical guidance. Washington (DC): US Environmental Protection Agency, Office of Water; 2020. Report No.: EPA 815-R-20-003.
17. Kaur R, Yadav B, Tyagi RD. Microbiology of hospital wastewater. In: *Current developments in biotechnology and bioengineering.* Elsevier; 2020.
18. Endalamaw K, Tadesse S, Asmare Z, Kebede D, Erkihun M, Abera B. Antimicrobial resistance profile of bacteria from hospital wastewater at two specialized hospitals in Bahir Dar city, Ethiopia. *BMC Microbiol.* 2024;24:525. doi:10.1186/s12866-024-03693-8
19. Kusuma AP, Rombot DV, Palandeng HMF. Gambaran pencemaran antibiotik pada sistem pembuangan limbah cair di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *J Kedokt Komunitas Trop.* 2021;9(2):329–333.
20. Di Pilato V, Willison E, Marchese A. The microbiology and pathogenesis of nonfermenting Gram-negative infections. *Curr Opin Infect Dis.* 2023;36(6):537–544. doi:10.1097/QCO.0000000000000969.
21. Allen ME. *MacConkey agar plates protocols.* Washington (DC): American Society for Microbiology; 200