



KARAKTERISTIK MORFOLOGI KOLONI BAKTERI LIMBAH BIOMEDIS CAIR RS UNHAS DENGAN METODE *STREAK PLATE*

Suci Wulandhani*, Universitas Patompo, Indonesia
Andi Bida Purnamasari, Universitas Patompo, Indonesia
Vivi Sunarti Mangol, Universitas Patompo, Indonesia
Misnarliah, Universitas Megarezky, Indonesia

*Corresponding author E-mail: suci.byomosq@gmail.com

Biomedical waste consists of all liquid and solid waste produced from hospital facilities and activities, while liquid biomedical waste is the result of production or activities that cannot be used anymore in liquid form originating from health services. All waste in liquid form, including feces, contains microorganisms, toxic and radioactive materials and blood which are dangerous to health. Liquid biomedical waste that is not managed properly contains many bacteria which can be used as an indicator of poor waste processing and unfavorable environmental conditions. Separating bacteria is needed to determine their type, morphology, physiology and characteristics. This research is a laboratory experimental study which was analyzed descriptively qualitatively with the aim of isolating and determining the morphological characteristics of bacterial colonies in liquid biomedical waste using the streak plate method. Samples of liquid biomedical waste came from the final disposal of the Hasanuddin University Teaching Hospital. The results of the research showed that by using the streak plate method, bacteria from cultured and purified liquid biomedical waste obtained 7 bacterial isolates that grew on Nutrient Agar media. The seven bacterial isolates had different colony morphology characteristics, namely 4 isolates had a cloudy white color and the other isolates were white and yellowish white. 5 isolates with round colony shapes with wavy edges with convex elevations.

Keywords: *Biomedical Waste, Morphological Characteristics of Bacteria, Streak Plate Method*

Abstrak

Limbah biomedis terdiri dari semua buangan limbah baik cair maupun padat yang dihasilkan dari fasilitas dan aktivitas rumah sakit, sedangkan limbah biomedis cair merupakan hasil dari produksi atau kegiatan yang tidak dapat dipakai lagi berbentuk cair yang berasal dari pelayanan Kesehatan. Semua buangan yang berbentuk cair termasuk tinja mengandung mikroorganisme, bahan beracun dan radioaktif serta darah yang berbahaya bagi kesehatan. Limbah biomedis cair yang tidak dikelola dengan baik mengandung banyak bakteri yang dapat dijadikan sebagai salah satu indikator adanya pengolahan limbah yang tidak baik serta kondisi lingkungan yang tidak baik. Pemisahan bakteri diperlukan untuk mengetahui jenis, morfologi, fisiologi, karakteristiknya. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium yang dianalisis secara deskriptif kualitatif yang bertujuan untuk mengisolasi dan menentukan karakteristik morfologi koloni bakteri limbah biomedis cair dengan metode *streak plate*. Sampel limbah biomedis cair berasal dari buangan akhir Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan menggunakan metode *streak plate* bakteri dari limbah biomedis cair yang dikultur dan dipurifikasi diperoleh 7 isolat bakteri yang tumbuh pada media Nutrient Agar. Ketujuh isolat bakteri tersebut memiliki perbedaan karakteristik morfologi koloni yaitu 4 isolat memiliki warna putih keruh dan isolat lain berwarna putih dan putih kekuningan. 5 isolat dengan bentuk koloni bulat dengan tepi bergelombang (*wavy*) dengan elevasi cembung (*convex*).

Kata Kunci: *Edmodo, motivasi belajar, biologi*

PENDAHULUAN

Rumah sakit menjadi tempat pelayanan kesehatan menghasilkan limbah yang berasal dari kegiatan rumah sakit dan kegiatan penunjang lainnya. Berdasarkan Permenkes Nomor 18 tahun 2020, limbah medis merupakan hasil buangan dari aktivitas medis pelayanan Kesehatan. Kegiatan tersebut menghasilkan limbah padat, limbah cair maupun limbah gas yang mengandung bahan kimia beracun, mikroorganisme patogen dan sebagian dari limbah tersebut bersifat radioaktif.

Keberadaan limbah ini dapat mempengaruhi kesehatan manusia dan mencemari lingkungan apabila pengelolaan yang dilakukan tidak tepat. Limbah biomedis cair mengandung banyak mikroorganisme dimana keberadaan mikroorganisme dalam hal ini bakteri dapat dijadikan sebagai indikator pengelolaan limbah yang tidak baik dan kondisi lingkungan yang tidak baik (Anita dan Indira, 2012).

Pengelolaan limbah Rumah Sakit dapat dilakukan dengan Instalasi Pengelolaan Air Limbah (IPAL). Limbah cair Rumah Sakit merupakan limbah infeksius yang masih perlu pengelolaan sebelum dibuang ke lingkungan. Pengelolaan limbah rumah sakit yang tidak baik dapat memicu terjadinya kecelakaan kerja dan penularan penyakit atau infeksi saling silang.

Infeksi silang ini dapat terjadi antara pasien ke pasien, pasien ke pekerja, maupun dari pengunjung rumah sakit. Infeksi silang bersumber dari kegiatan sanitasi umum, administrasi, poliklinik, laboratorium, ruang operasi, ruang radiologi, ruang perawat, dapur, laundry maupun kantin yang menghasilkan limbah baik padat, cair, gas, radioaktif maupun limbah B3 (Instalasi Sanitasi, 2006). Ethica (2018) menyatakan bahwa reagen cair dan beberapa sampel laboratorium seperti urine, darah, dahak, feses, sekresi vaginal merupakan contoh dari limbah biomedis cair.

Bakteri adalah mikroba uniseluler yang memiliki ukuran $0,5 \mu - 1 \mu$ dengan panjang 1μ . Bakteri dapat hidup hampir di semua tempat termasuk di dalam tubuh manusia. Bentuk dasar bakteri terdiri atas bentuk batang (basil), bulat (kokus) dan spiral. Keragaman bakteri yang terdapat pada limbah biomedis cair kemungkinan ditemukan kelompok bakteri hidrolitik yang bersifat non patogen dimana bakteri kelompok ini dapat menghasilkan berbagai enzim yang mampu mendegradasi limbah biomedis cair.

Kultur mikrobiologi merupakan metode dasar untuk mengisolasi bakteri. Untuk mendapatkan biakan murni ada beberapa metode atau teknik kultur yang dapat dilakukan yaitu metode *spread plate* dengan cara sebar, metode *pour plate* dengan cara tabur atau tuang dan metode *streak plate* dengan cara menggoreskan bakteri ke permukaan media nutrient agar di cawan petri dengan jarum ose (Irianto, 2012). Purifikasi atau pemurnian dilakukan dengan metode *streak plate* (metode gores) teknik ini dilakukan untuk meremajakan kultur pada media yang baru. Isolasi dan pemurnian dilakukan untuk memisahkan bakteri sehingga dapat diketahui jenis, morfologi, fisiologi dan karakteristik bakteri tersebut (Irianto, 2012).

Menurut Buchanan dan Gibbons (1974) penentuan karakteristik secara morfologi masih digunakan dalam taksonomi. Beberapa parameter morfologi yang dapat digunakan adalah morfologi koloni yang tumbuh dan morfologi sel yang dapat diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran tertentu. Parameter yang diamati dapat berupa bentuk, warna, ukuran dan letak koloni pada medium (Cappucinno dan Sherman, 1987).

Limbah biomedis cair khususnya limbah di Rumah Sakit belum diketahui jenis bakteri dan karakteristiknya sehingga peneliti tertarik untuk melihat dan mengamati karakteristik morfologi koloni

bakteri dari limbah biomedis cair tersebut dengan metode gores (*Steak plate*).

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengisolasi dan mendapatkan biakan murni yang kemudian akan ditentukan bagaimana karakteristik morfologi koloni dari limbah biomedis cair rumah sakit, sehingga dari hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut guna untuk mengetahui keberadaan bakteri hidrolitik yang bersifat non patogen dimana bakteri ini merupakan komponen yang dapat dijadikan agen bioremediasi, penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat dan instansi terkait bahwa limbah cair Rumah Sakit dapat diolah dengan melakukan kultur dan purifikasi secara biologi dengan melibatkan organisme hidup (mikroorganisme) untuk mengurangi/menghilangkan polutan.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorik dengan metode deskriptif kualitatif yang bertujuan untuk memperoleh karakteristik morfologi koloni bakteri dari limbah biomedis cair Rumah Sakit dengan menggunakan metode *Streak Plate*.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi merupakan suatu proses membebaskan peralatan atau bahan dari mikroorganisme yang tidak dikehendaki. Sterilisasi alat ada dua jenis sterilisasi alat yang berasal dari alat gelas yaitu dengan menggunakan oven dan medium pertumbuhan yaitu dengan menggunakan Autoclave. Semua alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C bertekanan 15 psi selama kurang lebih 15 menit dengan cara membungkus alat dan bahan tersebut dengan menggunakan aluminium foil. Jarum ose dan pinset

disterilisasikan dengan mencelupkan ke dalam alkohol 70% dan melakukan pemijaran menggunakan api Bunsen.

Pembuatan Media Kultur

Media pertumbuhan bakteri merupakan bahan yang terdiri dari campuran zat-zat makanan (nutrisi) yang diperlukan oleh bakteri untuk pertumbuhannya. Pembuatan media kultur dilakukan dengan cara menimbang media Nutrien Agar (NA) sebanyak 28 gram dan di larutkan ke dalam 1 liter aquades, diaduk dan dipanaskan hingga larut. Kemudian dituang ke dalam cawan petri dan disterilkan dengan *autoclave* dengan suhu 121⁰C selama 15 menit.

Pengambilan sampel limbah (100 ml)

Pada tahap ini, dilakukan pengambilan sampel air limbah buangan akhir Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Makassar. Sampel diambil menggunakan botol sampling steril dan diisi kurang lebih 100 ml. Pengambilan sampel dilakukan 1 kali. Sampel digunakan untuk pengkulturan pada media NA dan untuk media uji.

Pengenceran bertingkat (10⁻³)

Metode pengenceran sampel limbah cair dalam penelitian ini dapat dihitung dengan mengasumsikan satu koloni yang tumbuh berasal dari satu sel. Sehingga jumlah sel pada sampel awal dapat dihitung dengan mengalikan jumlah koloni yang tumbuh dengan faktor pengencernya, yang dinyatakan dengan pangkat negatif.

Inokulasi pada media NA (Nutrient Agar)

Inokulasi adalah suatu cara mengembangbiakkan mikroorganisme pada medium yang cocok. Hasil pengenceran sampel limbah biomedis cair di inokulasi pada media NA dengan teknik *spread*, kemudian di inkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37⁰C.

Purifikasi Koloni Pada Media NA

Isolat koloni bakteri yang telah di inkubasi kemudian diamati bentuk morfologi koloninya. Isolat yang diperoleh kemudian di purifikasi sebanyak tiga kali pada medium NA untuk mendapatkan koloni bakteri yang murni, dimana koloni bakteri ini akan digunakan pada tahap pengujian selanjutnya.

Karakteristik Morfologi

Secara morfologi koloni yang tumbuh dapat dibedakan berdasarkan bentuk koloninya, tepi, elevasi maupun warna koloninya (Cappucino dan Sherman, 1998).

Data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis secara deskriptif kualitatif, data yang diperoleh dan dikembangkan menjadi hipotesis dan disajikan dalam bentuk kata-kata atau gambar (Sugiyono, 2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Pengambilan dan Preparasi Sampel

Sampel limbah biomedis cair yang diambil pada pembuangan akhir limbah cair Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin, kemudian dilakukan kultur dan purifikasi di laboratorium mikrobiologi Universitas Hasanudin Makassar. Sampel penelitian berupa limbah biomedis cair rumah sakit rujukan Covid-19 di kota Makassar. Sampel di ambil sebanyak masing-masing 100 ml pada 3 titik yang berbeda di setiap lokasi dengan bantuan petugas rumah sakit. Masing-masing karakteristik sampel limbah tidak berwarna namun sedikit berbau. Sampel kemudian diberi kode sampel UH, karena dilakukan pengambilan sampel pada 3 titik yang berbeda maka diberi kode sampel UH1, UH2, UH3. Semua alat dan bahan yang akan digunakan terlebih dahulu disterilkan. Setelah tahapan sterilisasi alat dilakukan pembuatan media kultur yaitu media NA (*Nutrien Agar*) yang dituang di cawan petri.



Gambar 1. Sampel Limbah Biomedis Cair

Preparasi sampel dilakukan dengan pengenceran bertingkat menggunakan 4 tabung reaksi yang diisi dengan *NaCl* fisiologis masing-masing sebanyak 9 ml dan sampel limbah biomedis cair sebanyak 1 ml kemudian diberi label pengenceran bertingkat (10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3}).

Inokulasi dan Kultur pada Media NA

Inokulasi dilakukan dengan cara memindahkan bakteri dari medium yang lama ke medium yang baru. Pada saat inokulasi (penanaman bakteri) semua alat di usahakan agar tetap steril untuk menghindari terjadinya kontaminasi.



Gambar 2. Hasil Kultur Limbah Biomedis Cair Pada Media NA

Pengamatan Morfologi

Setiap koloni bakteri yang memiliki karakteristik morfologi yang berbeda diisolasi dan di purifikasi pada media *nutrient agar* miring untuk mendapatkan

koloni murni yang akan digunakan pada pengujian lebih lanjut. Total jumlah isolat bakteri yang dipurifikasi dan akan diuji lanjut pada tahapan berikutnya sebanyak 7

isolat koloni. Karakteristik morfologi koloni bakteri dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Karakteristik morfologi koloni bakteri hasil Isolasi dan purifikasi

Kode Sampel	Kode Isolat	Warna	Bentuk Koloni	Tepi	Elevasi
UH1	UH1.1	Putih keruh	Bulat dengan pinggiran bergerigi	Bergelombang	Cembung
	UH1.2	Putih	Bulat dengan pinggiran bergerigi	Bergelombang	Datar
	UH1.3	Putih keruh	Bulat dengan margin terangkat	Mulus	Cembung
UH2	UH2.1	Putih keruh	Bulat dengan pinggiran bergerigi	Bergelombang	Cembung
	UH2.2	Putih	Bulat dengan pinggiran bergerigi	Bergelombang	Datar
	UH2.3	Putih keruh	Bulat dengan margin terangkat	Mulus	Cembung
UH3	UH3.1	Putih Kekuningan	Bulat dengan pinggiran bergerigi	Bergelombang	Cembung

Karakteristik morfologi koloni bakteri dapat dilihat secara langsung dengan mata. Koloni tersebut biasanya berbentuk bulat, tidak beraturan dengan permukaan cekung maupun cembung, serta memiliki bentuk tepi koloni rata ataupun bergelombang (Cappucino, 1987). Dari hasil pengamatan yang dilakukan bentuk koloni umumnya bulat dengan tepi bergelombang (*wavy*) pada kode isolat UH.1, UH1.2, UH2.1, UH2.2 dan UH3.1.

Morfologi bakteri yang selanjutnya diamati adalah elevasi, dimana elevasi ini adalah derajat pertumbuhan bakteri diatas permukaan media agar. Elevasi ini diamati dengan mengangkat cawan petri sejajar dengan mata peneliti/pengamat kemudian diidentifikasi apakah pertumbuhan bakteri tersebut tebal, rata cembung atau bergelombang. Dari hasil pengamatan, pertumbuhan bakteri rata (*flat*) terdapat pada kode isolat UH1.2 dan UH2.2, sedangkan untuk pertumbuhan bakteri dengan elevasi cembung (*convex*) terdapat pada kode isolat UH1.1, UH1.3, UH2.1, UH2.3 dan UH3.1 tepi koloni dapat berupa licin, berombak, berbelah, bergerigi berbenang dan keriting.

Pembahasan

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa terdapat 3 isolat bakteri yang tumbuh pada media *Nutrient agar* dengan metode gores (*streak plate*) yaitu kode isolate UH1, UH2 dan UH3. Pada kode isolat UH1 dan UH2 terdapat 3 koloni bakteri sedangkan pada kode isolat UH3 terdapat 1 koloni bakteri. Isolat-isolat tersebut kemudian diberi kode dan diamati secara makroskopis. Menurut Dewi (2008) isolat bakteri merupakan hasil pengambilan atau pemindahan bakteri dari lingkungan asalnya dan menumbuhkannya sebagai biakan murni dalam medium buatan.

Pemurnian isolat bakteri pada penelitian ini sejalan dengan yang dilakukan oleh Lay (1994), dimana hasil yang di dapatkan adalah biakan murni yang hanya mengandung satu jenis bakteri. Hengkengbala *dkk* pada 2021 juga melakukan penelitian dengan melakukan peremajaan bakteri yang diinkubasi selama 24 jam dan mengkultur koloni bakteri dengan metode gores (*streak plate*),

metode ini dilakukan dengan cara menggoreskan satu ose bakteri pada permukaan media agar dalam cawan petri yang dilakukan secara berulang sehingga mendapatkan koloni tunggal (terpisah) berdasarkan warna, bentuk dan ukuran koloni (Waluyo, 2007).

Hasil pengamatan morfologi menunjukkan bahwa semua koloni bakteri memiliki kesamaan baik dari segi warna, bentuk, permukaan dan tepi koloni yakni berwarna putih keruh, berbentuk bulat, permukaan cembung dengan tepi tidak beraturan atau bergelombang. Ada empat isolat yang memiliki kesamaan yaitu kode isolat UH1.1, UH1.3, UH2.1 dan UH2.3 dengan warna putih keruh, isolat dengan kode UH1.2 dan UH2.2 berwarna putih dan kode isolat UH3.1 berwarna putih kekuningan. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Lenni (2013) yang mendapatkan hasil berupa bentuk morfologi koloni bakteri seluruh isolat berbentuk bulat dimana hampir semua isolat memiliki bentuk tepian rata yang sebagian besar isolatnya berwarna putih susu.

Pengamatan karakteristik morfologi perlu dilakukan untuk mempermudah identifikasi jenis-jenis bakteri. Ini sejalan dengan Lay (1994) yang menyatakan bahwa kita dapat melakukan proses identifikasi jenis-jenis mikroorganisme berdasarkan ciri morfologi koloni bakterinya dan biakan murni.

Prantowati (2019) dalam penelitiannya memperoleh 24 jenis isolat bakteri pada limbah cair Rumah Sakit umum di Yogyakarta. Dari beberapa jenis isolat tersebut, terdapat tiga genus bakteri yang paling baik pertumbuhannya yaitu *Leminorella*, *Enterobacter* dan *Chromobacterium*. Limbah biomedica cair yang mengandung patogen dapat berfungsi sebagai media penyebaran penyakit dilingkungan rumah sakit dan sekitarnya baik terhadap petugas rumah sakit, pasien maupun masyarakat.

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kultur dan purifikasi bakteri dapat dilakukan dengan beberapa metode salah satunya dengan menggunakan metode *Streak Plate* atau metode gores. Dengan menggunakan metode *streak plate*, kita dapat melihat karakteristik morfologi koloni bakteri hasil isolasi dan purifikasi. Koloni bakteri umumnya berwarna putih keruh. Terdapat 5 isolat dengan bentuk koloni bulat dengan tepi bergelombang (*Wavy*) yaitu isolat UH1.1, UH1.2, UH2.1, UH2.2 dan UH3.1 dengan elevasi yang umumnya cembung (*convex*).

DAFTAR RUJUKAN

- Anita dan Indira, A. J. (2012). Isolasi dan Identifikasi of Bacteria from Biomedical Waste (BMW). *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 5:975-1491.
- Barrow, G.I & R.K.A. Feltham. (1993). *Cowan and Steel Manual for the Identification of Medical Bacteria*. New York: Cambridge University Press.
- Buchanan, R.E. & Gibbons, N.E. (Eds). (1974). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th ed. Williams & Wilkins. Baltimore
- Cappuccino, J.G. & Sherman, N. (2005). *Microbiology: A Laboratory Manual*, New York: the Benjamin Cummings Publishing Company. Inc
- Dwidjoseputro. (2010). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan: Jakarta.

- Departemen Kesehatan RI. (2006). *Pedoman Penyelenggaraan dan Prosedur Rekam Medis Rumah Sakit di Indonesia Revisi 2*. Jakarta.
- Emmimol, A. (2012). Screening of microbes producing extracellular hydrolytic enzyme From Corporation waste dumping site and house hold water for the enhancement of bioremediation methods. *IOSR-JPBS*, 4, pp.54-60.
- Ethica, S.N., Saptaningtyas, R., Muchlissin, S.I. and Sabdono, A., (2018). The development method of bioremediation of hospital biomedical waste using hydrolytic bacteria. *Health and Technology*, 8(4), pp.239-254.
- Hengkengbala Sabrina I, Rosita A.J Lintang, Elvy L. Ginting, Deiske A. Sumilat, Remy E.P. Mangindaan, Sipriana Tumembouw. (2021). Karakteristik Morfologi dan Aktivitas Enzim Protease Bakteri Symbion Nudibranch. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 9(3):83-94.
- Irianto, K., (2012). *Mikrobiologi Mengungkap Dunia Mikroorganisme*. Bandung: Yrama Widya.
- Lay & Jutono. (2016). *Panduan Praktikum Mikrobiologi*. Fakultas farmasi, Universitas Sanata Dharma.
- Lenni F & Yasmin., 2011. Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Biologi Edukasi* 3(2): 20-25.
- Pelczar, Michael J dan Chan, E. C. S. (1998). *Dasar-Dasar Mikrobiologi* Jilid II. Jakarta: UI Press.
- Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 18, (2020), *Pengelolaan Limbah Medis Fasilitas Pelayanan Kesehatan Berbasis Wilayah*. Jakarta.
- Prantowati, (2009). *Isolasi Karakteristik dan Identifikasi Bakteri yang Mempunyai Potensi Mendegradasi Fenol dari Limbah Cair Rumah sakit*. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Sunan Kalijaga. Yogyakarta.
- Shehzadi, M., Fatimah, K., Imran, A., Mirza, S., Khan, Q.M., Afzal, M. (2015). Ecology of bacterial endophytes associated with wetland plants growing in textile effluent for pollutant-degradation and plant growth-promotion potentials. *Official Journal of the Societa Botanica Italiana*, 150:1261-1270.
- Sugiyono. (2009). *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*. Bandung: Alfabeta
- Waluyo, L. (2007). *Mikrobiologi Umum*. Malang: UNM Press.