

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENDEGRADASI FENOL
DARI LIMBAH CAIR RUMAH SAKIT UMUM DAERAH (RSUD)
ARIFIN ACHMAD PEKANBARU**

Rahmy Juwita, Bernadeta L. Fibriarti, Rodesia M. Roza

**Mahasiswa Program S1 Biologi
Dosen Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Kampus Bina Widya Pekanbaru, 28293, Indonesia
*rahmyjuwita03@gmail.com***

ABSTRACT

Phenol is a toxic organic compound found in hospital liquid waste. This research was conducted to obtain bacterial isolates that can be used for degrading agent in the microbiologically liquid waste control without harmful side product. Samples were taken from the liquid waste tank, at Arifin Achmad Hospital Pekanbaru, then the phenol content was counted using a folin-ciocalteau method. The isolation of phenol degrading bacteria used enrichment culture method in microbiology laboratory of Faculty of Mathematic and Science, Riau University. The next steps were to purify isolates purification, to test the ability of phenol degradation and also to obtain morphological characteristic (simple and gram staining) and to have some biochemical tests (MR-VP test, catalase test, carbohydrates fermentation, simmon's citrate test, casein hydrolysis and indole test). The results showed that phenol content in the samples ranged from 2 to 6 ppm, then 6 bacterial isolates were randomly selected and grown at ramsay medium and enriched with phenol in 48 hour incubation time. The shapes of selected isolates were bacilli and gram negative. The highest degradation rate was on MJEQ1 isolates (10 ppm/hour) and the lowest degradation was on MJST2 isolates (7,2 ppm/hour).

Keywords : characterization, degradation ,isolation, liquid waste, phenol

ABSTRAK

Fenol merupakan senyawa organik bersifat toksik yang terkandung di dalam limbah cair rumah sakit. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh isolat bakteri yang dapat digunakan sebagai pendegradasi fenol dalam penanganan limbah cair secara mikrobiologi tanpa produk sampingan yang berbahaya. Sampel diambil dari tangki penampungan limbah cair di Rumah Sakit Arifin Achmad Pekanbaru, kemudian dilanjutkan untuk menghitung kadar fenol dalam sampel dengan menggunakan metode *folin-ciocalteau* dan isolasi bakteri pendegradasi fenol dengan menggunakan metode *enrichment culture* di laboratorium mikrobiologi FMIPA Universitas Riau. Proses selanjutnya adalah purifikasi isolat, uji kemampuan degradasi fenol dan karakterisasi secara morfologi (pewarnaan sederhana dan pewarnaan gram) dan uji biokimia (uji MR-

VP, uji katalase, fermentasi karbohidrat, uji simmon's sitrat, hidrolisis kasein dan uji indol). Hasil penelitian diperoleh kadar fenol dalam sampel berkisar 2-6 ppm, dipilih secara acak 6 isolat bakteri yang tumbuh pada medium ramsay diperkaya dengan fenol 500 ppm pada inkubasi 48 jam. Isolat yang dipilih tersebut berbentuk basil dan gram negatif. Laju degradasi tertinggi adalah MJEQ1 isolat (10 ppm / jam) dan degradasi terendah adalah MJST2 isolat (7, 2 ppm / jam).

Kata kunci : degradasi, fenol, isolasi, karakterisasi, limbah cair

PENDAHULUAN

Rumah sakit sebagai pusat pengobatan, merupakan tempat terjadi proses pelayanan kesehatan bagi masyarakat mulai dari diagnosa, perawatan sampai rehabilitasi, sehingga rumah sakit mempunyai peranan yang sangat penting dalam pemeliharaan kesehatan penderita sampai tingkat yang optimal. Rumah sakit sebagai tempat berkumpul orang sakit dan orang sehat, sehingga sangat memungkinkan menjadi tempat penyebab penularan penyakit, gangguan kesehatan atau terjadinya pencemaran lingkungan (WHO).

Rumah sakit juga memiliki kemungkinan membawa dampak negatif. Dampak negatifnya dapat berupa pencemaran dari suatu proses kegiatan, yaitu bila limbah yang dihasilkan tidak dikelola dengan baik. Pengertian limbah rumah sakit adalah semua limbah yang dihasilkan dari kegiatan Rumah Sakit dalam bentuk padat, cair, pasta (gel) maupun gas yang dapat mengandung mikroorganisme patogen bersifat infeksius, bahan kimia beracun, dan sebagian bersifat radioaktif (Depkes, 2006).

Salah satu komponen organik yang terkandung dalam limbah cair rumah sakit adalah fenol. Fenol digunakan sebagai antiseptik, disinfektan dalam industri farmasetikal (Geng A. *et al.* 2006). Fenol merupakan senyawa

organik yang sangat berbahaya dan dapat menyebabkan kerusakan yang serius bagi kesehatan. Fenol memiliki efek *anestetik* (bius) lokal, dapat mempengaruhi sistem syaraf pusat, merusak organ dalam manusia, kebutaan, gangguan pencernaan, kerusakan hati dan ginjal serta dapat menyebabkan iritasi pada kulit (Auschwitz, 2006).

Salah satu upaya untuk mengatasi pencemaran oleh fenol adalah dengan biodegradasi yaitu menguraikan pencemar menjadi produk yang tidak berbahaya melalui reaksi enzimatik yang dilakukan oleh mikroba (Mitchell, 1992).

Penelitian ini bertujuan untuk Memperoleh isolat bakteri pendegradasi fenol dari limbah cair rumah sakit yang dapat dimanfaatkan sebagai agen pendegradasi dalam penanganan limbah secara mikrobiologi.

METODE PENELITIAN

a. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2013 – Maret 2014 di laboratorium Mikrobiologi Jurusan FMIPA Universitas Riau. Sampel limbah cair diambil dari Instalasi Pengambilan Air Limbah (IPAL) Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Arifin Achmad Pekanbaru.

b. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, botol sampel, erlenmeyer, rak tabung, cawan petri, beker gelas, timbangan analitik, *microwave*, vortek, oven, autoklaf, mikroskop, lampu bunsen, gelas objek, spektrofotometer UV-VIS, oven, jarum ose, pipet tetes, cuvet, batang pengaduk, botol spray, tabung durham, pipet tip, pipet mikro, shaker. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel limbah cair yang diambil dari IPAL RSUD Arifin Achmad Pekanbaru, aqua destilasi, spiritus, medium ramsay, fenol, glukosa, laktosa, sukrosa, alkohol 70 %, metilen blue, kristal violet, alkohol 96 %, safranin, methylen red, H₂O₂ 3% , natrium broth (NB), medium natrium agar (NA), medium *skim milk* agar, medium MR-VP, medium *simmon's citrate* agar, medium *tryptone broth*, reagen *kofac's*, reagen α naftol 5%, KOH 40%, asam sitrat 2%, dan KOH 2%.

c. Isolasi Bakteri Pedegradasi Fenol

Isolasi bakteri pendegradasi fenol dilakukan dengan menggunakan metode *enrichment culture* dengan menggunakan medium ramsay yang telah ditambahkan dengan fenol 500 ppm, kemudian masing-masing sampel dimasukkan kedalam medium tersebut dan inkubasi pada suhu ruang selama 48 jam pada shaker dengan kecepatan 200 rpm. Pada akhir inkubasi diambil 1 ml dituangkan secara *pour plate* pada medium ramsay agar yang telah diperkaya dengan fenol 500 ppm dan diinkubasi suhu ruang sampai terdapat koloni bakteri yang tumbuh. Koloni yang tumbuh dipilih 2 dari masing –

masing bak yang terdapat koloni bakteri pendegradasi fenol secara acak. Kemudian dilakukan pemurnian dengan menggunakan medium NA.

d. Uji Kemampuan Degradasi Fenol

Uji kemampuan degradasi fenol dilakukan dengan cara mengambil 1 ose bakteri pendegradasi fenol kemudian diinokulasikan pada medium ramsay dengan konsentrasi fenol 500 ppm. Dishaker selama 48 jam pada suhu ruang dan kemudian dihitung kadar fenol yang masih terkandung didalamnya dengan menggunakan metode folin-ciocalteau dengan menggunakan fenol sebagai standar dengan konsentrasi 40 ppm, 80 ppm, 120 ppm, 160 ppm, dan 200 ppm (Mustafa, 2010). Diperiksa pada absorbansi sampel pada 750 nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS.

e. Uji Laju Degradasi Fenol

Uji laju degradasi fenol dilakukan dengan cara mengambil 1 ose isolat 6 isolat pendegradasi fenol kemudian diinokulasi pada medium ramsay cair ditambahkan fenol 500 ppm. Diinkubasi pada shaker inkubator pada suhu ruang dengan kecepatan 200 rpm selama 48 jam. Diperiksa kadar fenol sampel dengan menggunakan metode folin-ciocalteau pada absorbansi 750 nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS dan dihitung laju degradasi dengan menggunakan rumus :

$$\frac{S_0 - S_1}{t}$$

Keterangan :

S₀ : ppm fenol awal

S₁ : ppm fenol akhir

t : waktu inkubasi

f. Karakterisasi Bakteri

Karakterisasi bakteri yang dilakukan meliputi pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan morfologi koloni meliputi bentuk koloni, permukaan koloni, elevasi, dan bentuk tepi koloni. Pengamatan ini dilakukan dengan pewarnaan sederhana dan pewarnaan gram. Kemudian dilanjutkan dengan uji biokimia yaitu uji katalase, uji reduksi *methyl red*, uji voges-proskauer, uji fermentasi karbohidrat, uji *simmon's citrate*, uji hidrolisis kasein, dan uji indol.

g. Analisis Data

Hasil dari pengamatan isolasi, karakterisasi, dan uji biokimia isolat bakteri pendegradasi fenol disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.

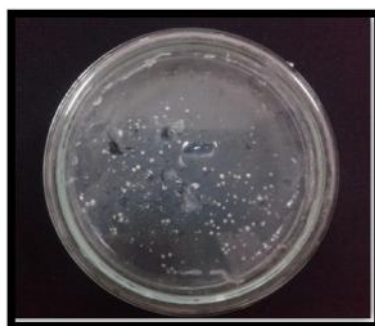
HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Isolasi Bakteri Pendegradasi Fenol

Isolasi bakteri pendegradasi fenol berjumlah 54 koloni yang terdapat pada bak penampungan *screen tank*, *equalasi*, dan sedimentasi (Tabel 1). Pada bak *water clean* dan *effluent* tidak terdapat pertumbuhan bakteri, sehingga hanya bakteri yang mampu memanfaatkan fenol sebagai sumber nutrisi tunggal yang dapat tumbuh. Hal ini sesuai dengan Rustamsjah (2006) yang menyatakan bahwa bakteri memiliki kemampuan untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan dan memanfaatkan sumber energi selain karbohidrat untuk tumbuh, sehingga bakteri yang dapat tumbuh hanya bakteri yang mampu memanfaatkan fenol sebagai sumber energi tunggal yang tersedia.

Tabel 1: Hasil isolasi bakteri pendegradasi fenol

Asal	Jumlah Koloni Tumbuh	Kode Isolat yang dipilih
Bak <i>Screen Tank</i>	14 koloni	MJST1, MJST2
Bak <i>Equalasi</i>	29 koloni	MJEQ1, MJEQ2
Bak Sedimentasi	8 koloni	MJSD1, MJSD2



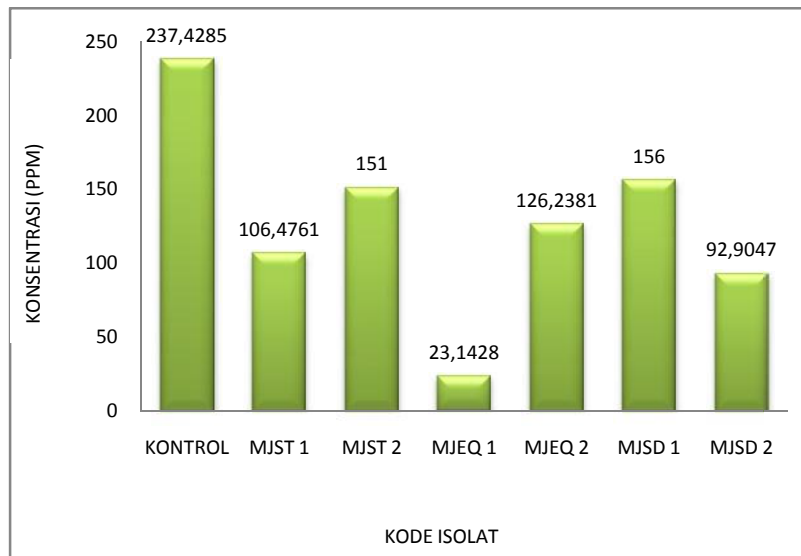
Gambar 1. Koloni bakteri yang berhasil tumbuh pada medium ramsay yang diperkaya dengan fenol 500 ppm.

b. Uji Kemampuan Degradasi Fenol

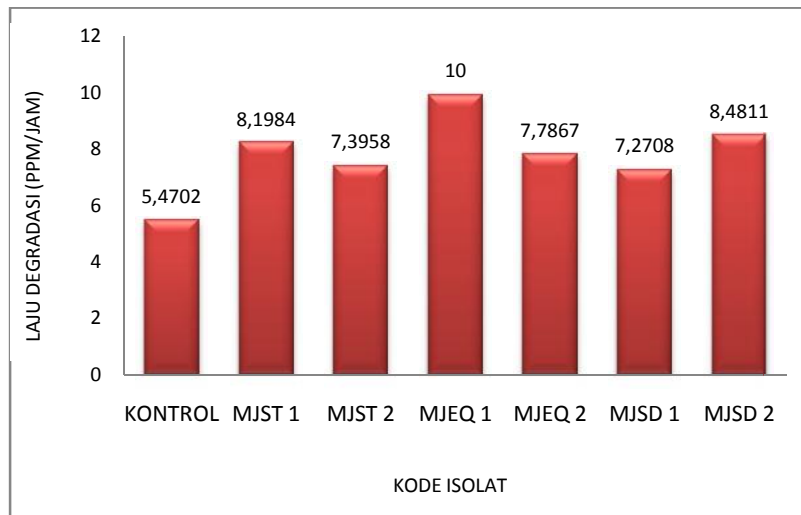
Uji kemampuan degradasi fenol dari 6 isolat bakteri yang terpilih dilakukan dengan metode *folin-ciocalteau*. Berdasarkan Gambar 2. menunjukkan bahwa setiap isolat memiliki kemampuan yang berbeda dalam mendegradasi fenol, dimana semakin rendah kadar fenol maka semakin tinggi kemampuan degradasi yang dimiliki oleh isolat. Kadar awal yang digunakan yaitu 500 ppm, dari gambar 2 dapat dilihat bahwa isolat MJEQ1 memiliki kemampuan tertinggi dalam menurunkan kadar fenol menjadi 23,1428 ppm dan isolat MJSD1 memiliki kemampuan terendah dalam menurunkan kadar fenol menjadi 156 ppm. Pada kontrol juga terjadi penurunan kadar fenol, hal ini dapat terjadi karena kandungan fenol dapat berkurang karena adanya perlakuan *menshaker* yang menyebabkan terjadinya aerasi yang merupakan cara manual dalam mengurangi kadar fenol. Hal ini sesuai dengan Sugiharto (1989) menyatakan bahwa penurunan kadar fenol dapat terjadi karena adanya proses aerasi. Berdasarkan Suharto (2011) aerasi pada pengolahan limbah cair bertujuan untuk memindahkan komponen terlarut mudah menguap antara lain senyawa organik mudah menguap dan toksik dan juga memindahkan kandungan gas karbondioksida dalam limbah cair. Pada Gambar 3 dapat dilihat bahwa 6 isolat bakteri tersebut memiliki kemampuan dalam menurunkan kadar fenol melalui proses biodegradasi. Isolat MJEQ1 memiliki laju degradasi tertinggi dan isolat MJST1 memiliki laju degradasi terendah, namun semua bakteri memiliki kemampuan dalam

mendegradasi fenol. Menurut Waluyo (2009) biodegradasi merupakan penguraian atau perombakan suatu senyawa dengan memanfaatkan mikroorganisme. Senyawa organik memiliki sifat yang lebih cepat terdegradasi dibandingkan senyawa anorganik. Proses biodegradasi berlangsung secara enzimatik dan bakteri menyerap molekul dengan bantuan enzim hidrolitik. Menurut Connel (1995) bakteri dapat menggunakan senyawa hidrokarbon secara utuh maupun sebagian untuk diuraikan secara sempurna.

Pada Gambar 2 dan Gambar 3 memperlihatkan bahwa penanganan limbah cair dapat dilakukan secara biologis dengan memanfaatkan mikroorganisme yang ada di dalam limbah tersebut. Sehingga pengolahan limbah tersebut tanpa menghasilkan sisa pengolahan yang berbahaya bagi lingkungan. Dalam hal ini penanganan limbah yang mengandung senyawa organik fenol. Hal ini diperkuat oleh Thomas (1989) menyatakan bahwa fenol akan digunakan oleh mikroba sebagai sumber makanan dan terdegradasi dalam tubuh mikroba menjadi bahan-bahan yang tidak berbahaya seperti asam asetat, gas metana, dan karbondioksida. Menurut Ginting (2007) limbah fenol dapat diatasi dengan metode kimia yaitu dengan menggunakan oksidasi kimia dengan bahan pengoksidasi berupa peroksida, *chlorin dioksida*, dan potasium permanganat. Dalam hal ini dengan bantuan aerasi dan penyaringan karbon aktif untuk meminimalisir adanya limbah tambahan hasil dari proses oksidasi tersebut. Dengan pengolahan secara biologis lebih efisien dan efektif dibandingkan secara kimia.



Gambar 2. Kemampuan degradasi fenol oleh isolat bakteri pada medium ramsay dengan kadar awal 500 ppm pada inkubasi 48 jam

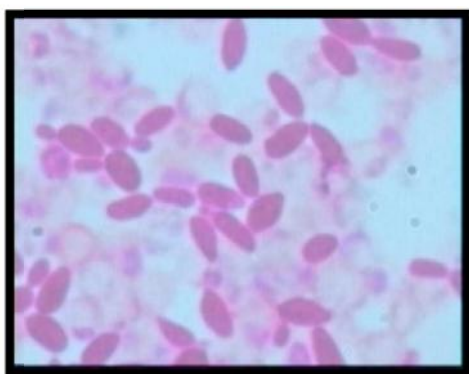


Gambar 3. Laju degradasi fenol oleh isolat bakteri pada medium ramsay dengan kadar awal 500 ppm pada inkubasi 48 jam

c. Karakterisasi Bakteri

Isolat bakteri yang berhasil diisolasi tersebut dipurifikasi dan dilakukan karakterisasi yaitu dengan pengamatan secara makroskopis dan

mikroskopis. Menurut Pelchzar (2010) teknik pewarnaan bakteri berupa pewarnaan sederhana dan pewarnaan gram. Hasil yang diperoleh semua isolat bakteri berbentuk basil dan merupakan bakteri gram negatif.



Gambar 4. Karakterisasi bakteri isolat MJEQ1 pewarnaan gram perbesaran 1000x

Tabel 2: Karakterisasi isolat bakteri pendegradasi fenol dari limbah cair RSUD Arifin Achmad Pekanbaru

Karakterisasi	MJST1	MJST2	MJEQ1	MJEQ2	MJSD1	MJSD2
Bentuk	basil	basil	basil	basil	basil	basil
Tepian	licin	licin	licin	licin	licin	licin
Elevasi	cembung	cembung	cembung	cembung	cembung	cembung
Warna	krem	krem	krem	krem	krem	krem
Pewarnaan gram	-	-	-	-	-	-
Uji MR	+	-	+	-	-	+
Uji VP	-	+	-	+	+	-
Hidrolisis katalase	+	-	-	+	-	+
Hidrolisis kasein	-	-	-	-	-	-
Uji simmon's sitrat	-	+	-	+	+	-
Uji indol	-	-	-	-	-	-
Fermentasi glukosa	+	+	+	+	+	+
Fermentasi sukrosa	+	+	+	+	+	+
Fermentasi laktosa	-	-	-	-	-	-

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat hasil karakterisasi masing-masing isolat berbeda. Menurut Lay (1994) metabolisme merupakan reaksi-reaksi kimia yang terjadi pada bakteri, sehingga sifat metabolisme bakteri dalam uji

biokimia biasanya dilihat dari interaksi metabolit-metabolit yang dihasilkan oleh reagen-reagen kimia dan dari kemampuan menggunakan senyawa tertentu sebagai sumber karbon dan energi. Uji ini dilakukan terhadap isolat

bakteri yang berumur 24 jam dan diinkubasi pada suhu ruang. Selama periode waktu inkubasi 24 jam diperkirakan bakteri berada pada fase logaritma atau eksponensial dimana sel membelah dengan laju konstan, aktifitas metabolit konstan serta keadaan pertumbuhan seimbang berdasarkan Pelczar (2010). Pada fase logaritma terjadi pembiakan bakteri berlangsung paling cepat, sehingga bakteri dalam fase ini baik sekali untuk dijadikan inokulum (Dwidjoseputro, 2010).

KESIMPULAN

Sebanyak 51 koloni bakteri pendegradasi fenol berhasil diisolasi dari limbah cair Rumah Sakit Umum Daerah Arifin Achmad Pekanbaru. Dipilih enam isolat secara acak untuk dilakukan uji lebih lanjut. Hasil pewarnaan sederhana dan pewarnaan gram keenam isolat tersebut berbentuk basil dan merupakan bakteri gram negatif. Isolat dengan laju degradasi tertinggi pada isolat MJEQ1 yaitu 10 ppm / jam dengan hasil uji biokimia positif pada uji MR, fermentasi glukosa dan sukrosa. Isolat dengan laju degradasi fenol terendah pada isolat MJST2 yaitu 7,2 ppm / jam dengan hasil uji biokimia positif pada uji VP, simmon's sitrat, fermentasi glukosa dan sukrosa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada RSUD Arifin Achmad yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Auschwitz. 2006. *Killing through phenol injection*. Austria : Johannes Kepler University.
- Connel DW, Miller GJ. 1995. *Kimia dan ekotoksikologi*. Jakarta: UI Press.
- Depkes RI. 2006. *Pedoman Umum Hygiene Sarana dan Bangunan Umum*.
- Dwidjoseputro. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Gintin P. 2007. *Sistem Pengelolaan Lingkungan dan Limbah Industri*. Bandung: Yrama Widya.
- Geng A. Soh AEW. Lim CJ. Loke LCT. 2006. *Isolation and characterization of phenol – degrading bacterium from industrial activated sludge*. APPL Microbial Biotechnol 71 : 728-735
- Lay BW. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: Rajawali Pers.
- Mustafa RA, Hamid AA, Mohammed S, Bakar FA. 2010. *Total Phenolic Compounds, Flavonoids, and Radical Scavenging Activity of 21 Selected Tropical Plant*. *Journal of Food Science*. 75 (1) : 28–35.
- Mitchell, R. 1992. *Environmental Microbiology*. John Wiley and Sons, Inc. New York

- Pelczar MJ. 2010. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Prantowati P. 2010. Isolasi Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri yang Mempunyai Potensi Mendegradasi Fenol dari Limbah Cair Rumah Sakit [skripsi]. Yogyakarta : UIN Sunan Kalijaga
- Rustamsjah. 2006. *Rekayasa Biodegradasi Fenol Oleh Pseudomonas Aeruginosa*. [Tesis]. Bandung: ITB.
- Sugihartono. 1987. *Dasar-dasar Pengolahan Air Limbah*. . Jakarta: UI Press.
- Thomas JM, Ward CH. 1989. *In situ Bioremediation of Organic Contaminants in the Subsurface*. *Environ. Sci. Technol.* 23: 760–766.
- Waluyo L. 2009. *Mikrobiologi Lingkungan*. Malang: Ummpress.