

PATHOGENICITY OF HYDROLYTIC BACTERIA ISOLATED FROM BIOMEDICAL WASTEWATER AT DR. SLAMET HOSPITAL

Mamay^{1*}, N. Ai Erlinawati¹, Zahara Farhan¹, Rina Herlina², Ranti Nurwantika², Elsa Zalfa Agustin¹

¹ STIKes Karsa Husada Garut, Jl. Nusa Indah No.24, Jayaraga, Kec. Tarogong Kidul, Kabupaten Garut, Jawa Barat 44151, Indonesia

² RSUD dr. Slamet Garut, Jl. RSUD dr. Slamet No. 12, Sukakarya, Kec. Tarogong Kidul, Kabupaten Garut, Jawa Barat 44151, Indonesia

*Corresponding author: Mamay (mamay@stikeskhg.ac.id)

ARTICLE HISTORY

Received: 28 January 2023

Revised: 14 July 2023

Accepted: 22 July 2023

Abstract

Low pathogenic to non-pathogenic are the criteria for bacteria as bioremediation agents for biomedical wastewater. Indigenous bacteria produce enzymes that degrade components contained in liquid biomedical waste, such as carbohydrates, proteins, and fats. Bacteria metabolize organic substances to reduce the growth of pathogenic microorganisms. In addition, bioremediation with indigenous bacteria with low pathogenicity can reduce the danger of contamination and infection from pathogenic microorganisms. The purpose of this study was to describe the pathogenicity of hydrolytic bacteria isolated from biomedical wastewater. The research is descriptive that using samples of biomedical wastewater from RSUD dr. Slamet Garut. Sampling was carried out using the Cluster Random Sampling technique at the shelter, inlet, and outlet. Isolation of protease and lipase bacteria using skimmed milk agar and rhodamine agar screening media. Bacterial pathogenicity testing by growing bacteria on mac conkey agar, blood agar, and chocolate agar. On isolated screening media, 89 colonies of protease-producing bacteria and 76 colonies of lipase were isolated. Pathogenicity test showed protease-producing bacteria with low pathogenicity of 21,3%, moderate 27%, high 36%, very high 4,5%, extra high 11,2%, and lipase-producing bacteria with low pathogenicity of 20%, moderate 45%, high 30%, very high 4% and extra high 1%. The research found that some of the bacteria producing protease and lipase had low pathogenicity as candidates for bioremediation agents.

Keywords: biomedical wastewater, hydrolytic bacteria, lipase, pathogenicity, protease

PATOGENITAS BAKTERI HIDROLITIK YANG DI ISOLASI DARI LIMBAH CAIR BIOMEDIS DI RSUD DR. SLAMET

Abstrak

Bakteri patogen rendah sampai non patogen merupakan kriteria bakteri sebagai agen bioremediasi limbah cair biomedis. Bakteri indigen menghasilkan enzim pendegradasi komponen yang terkandung limbah biomedis cair seperti karbohidrat, protein dan lemak. Bakteri yang memetabolisme zat-zat organik dapat mengurangi berkembang biaknya mikroorganisme patogen. Selain itu, bioremediasi dengan bakteri indigen dengan bakteri patogenitas rendah dapat mengurangi bahaya kontaminasi dan infeksi dari mikroorganisme patogen. Tujuan penelitian ini mengetahui patogenitas bakteri hidrolitik yang diisolasi dari limbah cair biomedis di RSUD dr. Slamet Garut. Penelitian bersifat deskriptif menggunakan sampel limbah cair biomedis dari RSUD dr. Slamet Garut. Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *Cluster Random Sampling* pada penampungan, inlet dan outlet. Isolasi bakteri protease dan lipase dengan media skrining susu skim agar dan rhodamin agar. Pengujian patogenitas bakteri dengan menumbuhkan bakteri pada agar mac conkey, agar darah dan agar coklat. Pada media skrining terisolasi bakteri penghasil protease sebanyak 89 koloni dan lipase sebanyak 76 koloni. Uji patogenitas menunjukkan bakteri penghasil protease dengan patogenitas rendah 21,3%, sedang 27%, tinggi 36%, sangat tinggi 4,5%, ekstra tinggi 11,2% dan bakteri penghasil lipase dengan patogenitas rendah 20%, sedang 45%, tinggi 30%, sangat tinggi 4% dan ekstra tinggi 1%. Dari penelitian diperoleh bakteri penghasil protease dan lipase dengan sebagian kecil memiliki patogenitas rendah sebagai kandidat agen bioremediasi.

Kata kunci: bakteri hidrolitik, limbah cair biomedis, lipase, patogenitas, protease

Pendahuluan

Kegiatan di rumah sakit menghasilkan limbah cukup banyak. Limbah rumah sakit dikategorikan sebagai limbah berbahaya dapat berupa limbah patologis seperti darah, urin, cairan tubuh, organ tubuh, limbah farmasi, limbah kimia dan limbah radioaktif. Diperkirakan Indonesia memproduksi limbah biomedis cair dari rumah sakit sebesar 48.985 ton/hari.¹ Limbah lain juga dihasilkan berasal dari dapur, air bekas pencucian pakaian, air bekas cucian luka, cucian darah.² Selain itu juga limbah cair biomedis mengandung kadar BOD, COD, amoniak (NH₃), dan kadar bakteri koliform yang tinggi.³

Pengelolaan limbah cair medis diperlukan untuk menyelamatkan lingkungan hidup dari gangguan zat pencemar yang berasal dari buangan limbah tersebut. Dengan pengelolaan yang baik, sisa limbah jika dibuang ke lingkungan dapat diminimalkan dan tidak menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan rumah sakit maupun ekosistem lingkungan sekitar rumah sakit tersebut.⁴ Akumulasi limbah domestik dan limbah biomedis cair yang dihasilkan dari air limbah rumah sakit memiliki polutan organik dengan konsentrasi tinggi, sehingga limbah cair tersebut dapat diolah secara biologis.³

Di Indonesia, pengolahan limbah biomedis seringkali diolah oleh Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) di masing-masing rumah sakit. Akan tetapi, pembangunan IPAL diperlukan biaya yang tidak sedikit. Oleh sebab itu, diperlukan metode lain untuk pengelolaan limbah cair biomedis yang efektif, ramah lingkungan, dan lebih ekonomis yaitu dengan proses bioremediasi yang memanfaatkan aktivitas mikroba seperti bakteri indigen yang tumbuh dalam polutan.⁵ Penumbuhan bakteri indigen pada polutan tertentu merupakan langkah untuk menurunkan kadar polutan limbah tersebut.⁶

Bioremediasi merupakan teknik remediasi dengan pemanfaatan mikroorganisme untuk pemulihan kondisi lingkungan. Proses ini dipandang jauh lebih murah dan efektif dibandingkan teknik remediasi dengan cara fisika ataupun kimia. Pada saat proses bioremediasi, enzim yang diproduksi oleh bakteri akan memetabolisme zat-zat dalam limbah sehingga dapat memodifikasi struktur yang menjadi tidak kompleks. Hal tersebut akan merubah metabolit yang awalnya berbahaya menjadi metabolit yang tidak beracun dan tidak berbahaya.⁶ Mikroorganisme dan enzim merupakan agen biologis utama pada proses bioremediasi. Enzim yang dikenal luas penggunaannya dalam proses bioremediasi limbah cair adalah enzim lipase dan protease.⁷ Enzim protease dan lipase yang diproduksi dalam bakteri indigen berperan penting dalam pendegradasian biomassa dan bahan organik.⁸ Enzim protease menghidrolisis ikatan polipeptida protein menghasilkan peptide dan asam amino. Enzim lipase menghidrolisis lemak dan minyak menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu asam lemak.

Kriteria bakteri agen bioremediasi dapat menggunakan bakteri indigen limbah dengan patogenitas dan non patogen. Selain itu, bakteri mampu menghasilkan enzim pendegradasi bahan limbah yang terdapat dalam limbah biomedis cair seperti karbohidrat, protein dan lemak.⁹ Bakteri hidrolitik dengan tingkat patogenitas yang rendah hingga non patogen, juga dapat memetabolisme zat-zat organik. Melalui proses pendegradasi zat dalam limbah dapat mengurangi kemungkinan mikroorganisme patogen dapat berkembang biak. Selain itu, proses pendegradasian ini juga mengurangi resiko bahaya kontaminasi dan infeksi akibat dari mikroorganisme patogen tersebut.¹⁰

Pengolahan limbah cair biomedis di RSUD dr. Slamet Garut menggunakan alat IPAL. Berdasarkan data laporan bulanan IPAL, diperoleh data mengenai kadar COD, BOD dan amoniak didapatkan kadar limbah cair biomedis sedikit melebihi dari kadar maksimum, sehingga diperlukan langkah pengolahan tambahan untuk memaksimalkan prosesnya. Berdasarkan uraian latar belakang di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai patogenitas bakteri hidrolitik dari limbah cair biomedis di RSUD dr. Slamet Garut. Setelah mengetahui gambaran patogenitas bakteri hidrolitik, ke depannya memungkinkan untuk melakukan karakterisasi bakteri dengan patogenitas rendah dan mengaplikasikan dalam proses bioremediasi limbah medis.

Metode

Alat

Peralatan yang diperlukan dalam penelitian ini antara lain *laminar air flow*, timbangan analitik, erlenmeyer 100ml, oven, ose bulat, cawan petri, tabung reaksi, lampu UV, autoclave, bunsen, inkubator, *aluminium foil*, parafilm, label, dan tisu.

Bahan dan Media

Bahan sampel yang digunakan adalah limbah cair biomedis di RSUD dr Slamet. Media yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Mac Conkey Agar Plate (MCP)*, *Blood Agar Plate (BAP)*, *Chocolate Agar Plate (CAP)*, dan *Nutrient Agar*, aquades, susu skim, NaCl fisiologis 0,85%, *olive oil*, rhodamin B.

Prosedur

Sterilisasi Alat dan Media

Alat gelas yang digunakan seperti cawan petri, botol sampel, dicuci bersih, dikeringkan dan dibungkus kertas coklat. Proses sterilisasi alat menggunakan oven pada suhu 180°C selama 1,5 jam. Sterilisasi media agar dilakukan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan Media Skringing

Pembuatan media skringing lipase, media rhodamin agar dibuat dengan komposisi campuran 2,5% nutrient agar, 2,5 % olive oil (w/v) ditambah 1 tetes Rhodamin B 0,1 %. Media skringing protease, susu skim agar dibuat dengan komposisi 2,5 % nutrient agar, 2,5 % susu skim (w/v). Penambahan rhodamin dan susu skim steril dilakukan setelah media selesai disterilisasi.

Pembuatan Media Uji Patogenitas

Untuk uji patogenitas menggunakan media agar darah (BAP), mac conkey (MCP) dan agar coklat (CAP). Masing-masing media BAP, MCP dan CAP ditimbang sebanyak 4,05 gr, 5,50 gr dan 44 gr, kemudian dilarutkan dengan 100 ml aquades. Media dihomogenkan dengan pengadukan dan pemanasan. Media agar disterilisasi dengan autoclave. Sebelum penuangan ke dalam cawan petri, pada suhu 40-50 °C media BAP ditambah 5 ml darah, sedangkan CAP ditambah 5 ml darah yang tidak mengandung fibrin.

Pengenceran Sampel

Jumlah bakteri pada limbah cair biomedis sangatlah tinggi, untuk memudahkan mendapatkan koloni tunggal dilakukan pengenceran sampel dilakukan sampai dengan pengenceran 10^{-11} . Pengenceran 10^{-1} dibuat dengan cara sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke tabung reaksi yang berisi 9 ml NaCl Fisiologis dan homogenkan. Larutan dengan konsentrasi 10^{-11} diambil 1 ml dimasukkan ke dalam 9 ml NaCl fisiologis dan diperoleh pengenceran 10^{-2} . Hal yang serupa dilakukan pengenceran sampai diperoleh konsentrasi 10^{-11} .

Isolasi Bakteri Penghasil Lipase

Siapkan cawan petri yang sudah diberi label, pipet 1 ml sampel yang sudah dilakukan pengenceran 10^{-11} kedalam cawan petri, lalu tuang 12-15 ml media agar Rhodamin B yang sudah dibuat dan cawan diputar untuk proses homogenisasi, diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Bakteri penghasil lipase tumbuh dengan adanya pendar berwarna orange pada koloni di bawah lampu sinar UV.

Isolasi Bakteri Penghasil Protease

Sebanyak 1 ml sampel hasil pengenceran 10^{-11} dimasukkan kedalam cawan petri, lalu tuang 12-15 ml media susu skim agar dan dihomogenkan, diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Bakteri penghasil protease tumbuh dengan adanya zona bening di sekitar koloni.

Uji Patogenitas

Uji patogenitas dilakukan pada media MCP, BAP, dan CAP. Media dibagi menjadi sembilan bagian dengan ditandai pada cawan petri. Setelah itu, diambil satu ose bakteri hidrolitik yang tumbuh lalu di goreskan pada media dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pada Media MCP. bakteri yang memfermentasikan laktosa akan tumbuh dengan koloni yang berwarna pink. Aktivitas yang terjadi pada media BAP ditandai dengan adanya zona bening keemasan disekitar koloni (β hemolisis), kehijauan (α hemolisis) dan tidak ada zona bening di sekeliling koloni bakteri (γ hemolisis atau non hemolisis). Pada media CAP akan menunjukkan koloni *Neisseria meningitidis* dan *Haemophilus influenza* koloninya besar, bulat, halus, cembung, tidak berwarna hingga abu-abu, buram koloni tanpa perubahan warna pada media, lalu pada koloni *Streptococcus pneumoniae* akan terbentuk koloni kecil berwarna abu-abu sampai hijau dengan zona hemolisis (hanya agak hijau) sedangkan Koloni *Neisseria gonorrhoeae* berwarna coklat kemerah-merahan dan tembus cahaya, konsistensi halus dan batas tegas, dan biasanya berdiameter 0,5-1 mm. Untuk menentukan hasil patogenitas bakteri

hidrolitik sebagai kandidat agen bioremediasi diperoleh berdasarkan penetapan skor patogenitas¹¹ seperti pada Tabel 1

Tabel 1. Penetapan Skor Patogenisitas ¹¹

No	Hasil <i>Mac conkey plate (MCP)</i>	Hasil Blood agar plate (BAP)	Hasil Chocolate Agar plate (CAP)	Tingkat Patogenitas
1	+	β	-	Tinggi
2	+	α	-	Sedang
3	+	γ	-	Rendah
4	-	β	-	Sangat tinggi
5	-	α	-	Tinggi
6	-	γ	-	Sedang
7	+	β	+	Ekstra tinggi

Hasil

Penelitian ini dilakukan di laboratorium mikrobiologi STIKes Karsa Husada Garut dan di instansi sanitasi RSUD dr. Slamet Garut sebagai tempat pengambilan sampel limbah cair biomedis. Sampel limbah cair medis yang diambil dari alat pembuangan limbah cair yang menggunakan alat IPAL yaitu pada bagian penampungan, inlet, dan outlet yang diisolasi pada media skrining lipase dan protease. Pertumbuhan bakteri pada media skrining protease dan lipase dapat dilihat pada Gambar 1. Semua sampel yang telah dilakukan pengamatan didapatkan jumlah koloni total yang tumbuh dan koloni yang berpotensi menghasilkan protease dan lipase dapat dilihat pada Tabel 2.

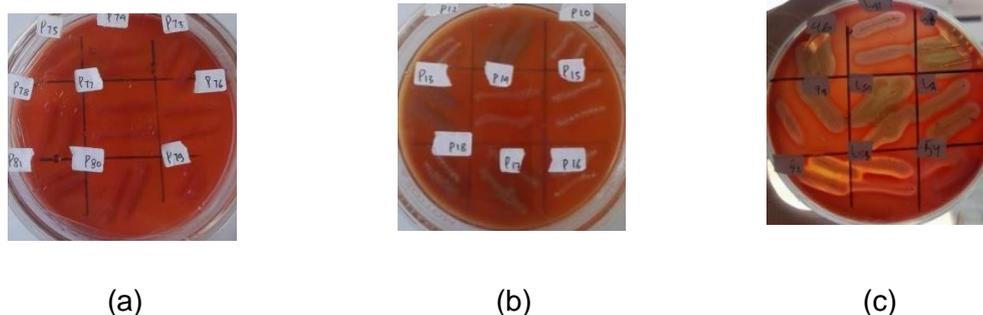


Gambar 1. Pertumbuhan bakteri pada media skrining protease yang menggunakan SMA (a) dan media skrining lipase pada media rhodamin B (b)

Tabel 2. Jumlah Koloni yang Tumbuh pada Media Skrining Protease

Tempat Sampling	Media susu skim agar		Media rhodamin agar	
	Σ Koloni total	Koloni protease	Σ Koloni total	Koloni lipase
Penampungan	53	47	70	63
Inlet	38	32	14	8
Outlet	15	10	10	5
Jumlah	106	89	94	76

Setelah dilakukan penanaman pada media skrining lipase dan juga media skrining SMA selanjutnya koloni yang dinyatakan positif mempunyai enzim lipase dan enzim protease dilanjutkan dengan uji patogenitas yang ditanam pada media MCP, CAP dan BAP (Gambar 2). Hasil uji patogenitas bakteri hidrolitik protease dan lipase dapat dilihat pada Tabel 3.



Gambar 2. Pertumbuhan bakteri pada uji patogenitas pada meda MCP (a), CAP (b), dan BAP (c)

Tabel 3. Patogenitas Bakteri Penghasil Protease dan Lipase

Tempat Sampling	Jumlah bakteri yang berpatogen					Total
	Rendah	Sedang	Tinggi	Sangat tinggi	Ekstra tinggi	
Protease						
Penampungan	7	8	24	1	7	47
Inlet	10	11	8	0	3	32
Outlet	2	5	0	3	0	10
Jumlah	19	24	32	4	10	89
Persentase	21,3%	27%	36%	4,5%	11,2%	100%
Lipase						
Penampungan	10	32	18	2	1	63
Inlet	4	1	2	1	0	8
Outlet	1	1	3	0	0	5
Jumlah	15	34	23	3	1	76
Persentase	20%	45%	30%	4%	1%	100%

Pembahasan

Pada penelitian ini sampel yang diambil dari 3 titik alat IPAL yaitu dari penampungan, inlet dan outlet limbah cair biomedis RSUD dr.Slamet Garut. Pengujian sampel diawali dengan dengan pengenceran terlebih dahulu. Pengenceran yang dilakukan dalam penelitian ini sampai dengan pengenceran dengan konsentrasi 10^{-11} dengan menggunakan NaCl fisiologis karena pada pengenceran ini dapat memudahkan koloni-koloni untuk dapat berpisah pada saat diisolasi pada media skrining lipase dan juga media untuk skrining protease.

Berdasarkan Tabel 2, pada titik penampungan dan inlet didapatkan koloni bakteri lebih banyak karena pada titik ini merupakan buangan pertama dari kegiatan rumah sakit. Limbah cair ini belum masuk pengolahan IPAL dan baru di bak pertama screening untuk equalisasi penampungan dan pengendapan sehingga belum mendapat pengolahan khusus. Penelitian lain menyebutkan tingginya bakteri koliform pada titik inlet dan penampungan merupakan indikasi adanya bakteri patogen dari spesimen sampel makhluk hidup yang tercampur dalam penampungan. Hal tersebut sejalan dengan ditemukannya bakteri yang teridentifikasi sebagai *lactosa fermenter* (terlihat koloni pink) pada media MCP. Pada daerah outlet terjadi penurunan mikrobiologi dikarenakan titik sampling outlet merupakan titik akhir dalam proses IPAL dimana limbah cair medis tersebut sudah melalui serangkaian treatment ataupun pengolahan untuk menurunkan jumlah bakteri.¹²

Pada isolasi bakteri uji skrining enzim protease dengan menggunakan media susu skim agar mengandung protein susu kasein yang menjadi sumber nutrisi yang akan dimetabolisme oleh bakteri proteolitik. Pada proses degradasi kasein oleh bakteri, aktivitas enzim protease ekstraseluler yang disekresi bakteri sehingga terlihat zona bening disekitar koloni pada media. Zona bening yang terbentuk karena adanya protease yang menghidrolisis atau memutus ikatan peptida pada protein unit peptida yang lebih kecil, yaitu asam amino.¹³ Hasil penelitian memperlihatkan dari 89 koloni yang mempunyai enzim protease mempunyai skor patogenitas rendah sebanyak 19 koloni sebagai kandidat agen bioremediasi.

Isolasi bakteri untuk skrining enzim lipase menggunakan nutrient agar di tambah dengan *olive oil*, setelah di sterilisasi dan ditambahkan rhodamin B, dimana isolasi ini dilakukan untuk memastikan aktivitas lipase dilakukan uji secara kualitatif dengan cara melihat pendaran koloni di bawah sinar UV. Besarnya pendaran orange yang terbentuk di sekitar koloni menandakan banyaknya gliserol hasil reaksi hidrolisis asam lemak *olive oil* oleh lipase.¹³ Hasil penelitian memperlihatkan dari 76 koloni yang mempunyai enzim lipase mempunyai skor patogenitas rendah sebanyak 16 koloni sebagai kandidat agen bioremediasi.

Untuk uji patogenitas menggunakan media MCP, BAP, dan juga CAP untuk menentukan skor patogenitas. Pada media MCP bakteri yang memfermentasikan laktosa akan tumbuh dengan koloni yang berwarna pink, media MCP mengandung garam empedu (*bile salts*) dan kristal violet yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif sehingga dapat dijadikan sebagai media selektif. Media MCP juga dapat menjadi media diferensial karena kemampuannya dapat membedakan bakteri berdasarkan kemampuan memfermentasikan laktosa. Patogenitas yang dilakukan dengan MCP menunjukkan sebagian besar koloni yang diperoleh mampu tumbuh pada media. Hal ini menunjukkan kemungkinan bahwa semua koloni tersebut merupakan kelompok bakteri Gram-negatif. Hal ini dikarenakan media MCP menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dengan adanya garam empedu yang akan membentuk kristal violet, yang tidak menunjukkan koloni berwarna pink hanya pada koloni bakteri protease (P12 dan P30) dan koloni bakteri lipase (L7,L9,L64,L66,L72).

Pengamatan pada media BAP menunjukkan pada koloni yang tumbuh pada media skrining protease tumbuh 29 koloni dengan α hemolisis, 40 koloni dengan β hemolisis, dan 20 koloni dengan γ hemolisis. BAP merupakan media diferensial untuk membedakan bakteri dari kemampuan melisis darah. Bakteri dengan penghasil enzim ekstraseluler hemolisin dapat melisis sel darah merah pada agar (hemolisis), aktivitas yang ini ditandai dengan adanya zona jernih keemasan di sekitar koloni (β hemolisis), kehijauan (α hemolisis) dan non hemolisis (γ hemolisis).

Penggunaan CAP merupakan bagian dari penggunaan 3 media utama untuk sistem skoring patogenitas. Media CAP berfungsi untuk mengetahui apakah isolat bakteri terpilih menunjukkan karakteristik koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae* dan *Haemophilus influenza*. Hasil penelitian menunjukkan beberapa isolat bakteri yang menunjukkan diameter besar, dan α hemolisis pada isolat P (2, 10, 13, 17, 21, 22, 33, 56, 62, 63) dan L18. Oleh karena itu, isolat bakteri hidrolitik tersebut dikategorikan dalam kelompok tingkat patogen ekstra tinggi. Berdasarkan ciri-ciri koloni yang tumbuh pada media CAP, spesies bakteri terduga sebagai *Streptococcus pneumoniae*.

Dari hasil penelitian ini dapat diperoleh bakteri penghasil enzim lipase dan enzim protease dengan sebagian kecil memiliki patogenitas rendah dari limbah cair biomedis RSUD dr.Slamet Garut sebagai kandidat agen bioremediasi tetapi harus dilakukan pemeriksaan lebih lanjut. Bakteri dengan karakteristik tersebut berpotensi untuk dijadikan agen bioremediasi limbah biomedis cair.⁹ Namun sebelum dapat digunakan sebagai agen bioremediasi, diperlukan uji lanjutan karakterisasi penentuan spesies bakteri, sejauh mana aktivitas protease dan lipase dapat digunakan dalam proses

bioremediasi, dan pengukuran mana kemampuan bakteri dalam memperbaiki parameter limbah cair seperti pH, COD, BOD, TSS, TDS dan lain-lain.

Kesimpulan

Dari limbah cair RSUD dr.Slamet Garut diperoleh bakteri penghasil protease dan lipase dengan sebagian kecil memiliki patogenitas rendah sebagai kandidat agen bioremediasi.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada pihak yang telah membantu dan mendanai penelitian dari LP4M STIKes Karsa Husada Garut

Daftar Pustaka

1. Ola-Adisa EO, Mangden YPE, Sati YC, Adisa JO. Knowledge, attitudes/beliefs and practices in medical waste management-an appraisal of Jos North LGA, Plateau State, Nigeria. *Int J Res Humanit Soc Stud* [Internet]. 2015;2(12):43–56. Available from: <https://www.ijrhss.org/pdf/v2-i12/5.pdf>
2. Adhani R. Pengelolaan limbah medis pelayanan kesehatan [Internet]. 1st ed. Lambung Mangkurat University Press. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press; 2018. 122 p. Available from: http://eprints.ulm.ac.id/2939/1/Buku_Pengelolaan_limbah_medis_pelayanan_kesehatan_final_26feb2018.pdf.
3. Mora YS. Evaluasi dimensi unit istalasi pengolahan air limbah domestik Rumah Sakit dr. Ernaldi Bahar Kota Palembang. *J Dampak* [Internet]. 2015;12(2):127–36. Available from: <http://jurnaldampak.ft.unand.ac.id/index.php/Dampak/article/view/53>
4. Naini I, Dahlan H, Mohadi R. Kajian pengolahan limbah cair Rumah Sakit dr. Rivai Abdullah dan analisis resiko terhadap kesehatan lingkungan. *Biosci Fak MIPA Univ Sriwij* [Internet]. 2015;12(1):60–77. Available from: https://repository.unsri.ac.id/13537/1/42_Kajian_Pengolahan_Limbah_Cair_Rumah_Sakit_Kusta_Dr._Rivai_Abdullah_dan_Analisis_Risiko_terhadap_Kesehatan_Lingkungan.pdf.
5. Aliyanta B, Sumarlin LO, Mujab AS. Penggunaan biokompos dalam bioremediasi lahan tercemar limbah minyak bumi. *J Kim Val* [Internet]. 2012;2(3):430–42. Available from: <https://journal.uinjkt.ac.id/index.php/valensi/article/view/114>
6. Priadie B. Teknik bioremediasi sebagai alternatif dalam upaya pengendalian pencemaran air. *J Ilmu Lingkung* [Internet]. 2012;10(1):38–48. Available from: <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ilmulingkungan/article/view/4094>
7. Supriyatna A, Ukit U. Screening and isolation of cellulolytic bacteria from gut of black soldier flays larvae (*Hermetia illucens*) feeding with rice straw. *Biosaintifika J Biol Biol Educ* [Internet]. 2016;8(3):314–20. Available from: <https://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/biosaintifika/article/view/6762>
8. Ethica SN, Muchlissin SI, Saptaningtyas R, Sabdono A. Sampling mikrobiologi limbah biomedis Rumah Sakit di Kota Semarang Jawa Tengah. *Pros Nas dan Int* [Internet]. 2017;1(1). Available from: <https://jurnal.unimus.ac.id/index.php/psn12012010/article/view/2889>
9. Ethica SN, Saptaningtyas R, Muchlissin SI, Sabdono A. The development method of bioremediation of hospital biomedical waste using hydrolytic bacteria. *Health Technol (Berl)* [Internet]. 2018;8(4). Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12553-018-0232-8>
10. A E, G G, R P, Et.al. Screening of microbes producing extracellular hydrolytic enzyme from corporation waste dumping site and house hold waste for the

- enhancement of bioremediation methods. IOSR J Pharm Biol Sci [Internet]. 2012;4(1):54–60. Available from: <https://www.iosrjournals.org/iosr-jpbs/papers/Vol4-issue1/K0415456.pdf>
11. Darmawati S, Muchlissin SI, Ernanto AR, Sulistyningtyas AR, Fuad H, Rahman KMZ, et al. Pathogenicity scoring system for selection of bacterial consortium formulated as bioremediation agent of Hospital Wastewater in Central Java. In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science [Internet]. China: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science; 2021. p. 28–30. Available from: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/707/1/012003>
 12. Sulistiyawati I. Kuantitas total bakteri Coliform pada instalasi pengolahan limbah cair medis laboratorium klinik. J Ilm Univ Batanghari Jambi [Internet]. 2019;19(3):675–7. Available from: <http://ji.unbari.ac.id/index.php/ilmiah/article/view/718/608>
 13. Pricilia S, Astuti W, Marlina E. Skrining bakteri endofit penghasil amilase, lipase dan protease dari daun Macaranga hullettii King ex Hook.f. J At [Internet]. 2018;3(2). Available from: <http://jurnal.kimia.fmipa.unmul.ac.id/index.php/JA/article/view/634>