

Validasi Alat Pengolahan Limbah Padat Medis dengan *Sterilwave* 440 HP

PRIANDARI SEKARAYU ANJANI¹, ETIH HARTATI¹, NOVI FITRIA²

1. Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perancangan Itenas (Institut Teknologi Nasional)
2. Pusat Riset Lingkungan dan Teknologi Bersih (Badan Riset dan Inovasi Nasional)
Email: prianpriandari@mhs.itenas.ac.id

ABSTRAK

Limbah padat medis termasuk karakteristik limbah infeksius, di mana perlu melakukan pengolahan secara khusus, seperti pengolahan secara termal. Sterilwave adalah salah satu alat pengolah limbah padat medis secara termal yang digunakan oleh salah satu rumah sakit di Kota Cimahi. Pengolahan limbah padat medis harus dilakukan agar tidak menimbulkan permasalahan lingkungan dan kesehatan. Mengacu pada Peraturan Menteri LHK No. P.56 Tahun 2015, bahwa alat pengolahan limbah perlu dilakukan pengujian validasi untuk bisa membuktikan keefektifan dalam menginaktivasi mikroorganisme patogen. Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan, uji validasi pada alat sterilwave telah efektif dalam menginaktivasi mikroorganisme. Hasil menunjukkan bahwa bioindikator yang dibiakan pada media agar, tidak mengalami pertumbuhan koloni. Limbah padat medis yang telah melalui proses sterilisasi dengan Sterilwave dapat dikategorikan noninfeksius.

Kata kunci: Limbah Padat Medis, Sterilwave, *Geobacillus stearothermophilus*, Uji Validasi

1. PENDAHULUAN

Rumah sakit menghasilkan limbah, di mana limbah tersebut berupa limbah medis dan nonmedis (Aini, 2019). Limbah medis adalah hasil buangan dari aktivitas medis dari fasyankes, seperti farmasi, rumah sakit, poliklinik, dan lain-lain. Limbah medis termasuk limbah B3 berkarakteristik infeksius, yaitu limbah padat yang terkontaminasi organisme patogen yang tidak secara rutin ada di lingkungan dan organisme tersebut dalam jumlah dan virulensi yang cukup untuk menularkan penyakit pada manusia rentan (DepKes, 2004). Limbah padat medis yang tidak dikelola dengan baik dapat menimbulkan berkembangnya patogen di lingkungan sarana kesehatan melalui udara, air, lantai, makanan, dan benda-benda peralatan medis dan nonmedis (Masruddin dkk., 2021). Selain itu berdampak buruk tidak hanya pada pasien, tetapi juga pekerja, seperti tertusuk jarum suntik, terkena cairan berbahan kimia, dan berbagai macam mikroorganisme patogen yang terdapat pada limbah sehingga terjadi penularan penyakit terhadap yang terpajan (Kristanti dkk., 2021). Pengolahan limbah padat medis secara termal dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa peralatan, diantaranya autoklaf, gelombang mikro, iradiasi frekuensi radio, dan insinerator (PerMenLHK P.56/2015).

Sterilwave merupakan salah satu contoh alat pengolahan limbah medis secara termal, dengan sistem pengolahan limbah medis berbasis gelombang mikro (Bertin, 2017). Untuk mengetahui keefektifan alat *sterilwave*, perlu dilakukannya uji validasi untuk memantau efektivitas proses sterilisasi dengan menggunakan indikator biologis. Sesuai dengan PerMenKes RI No. P.56 Tahun

2015 Pasal 20 Ayat 1, bahwa peralatan pengolahan limbah B3 harus melakukan dua persyaratan dalam menggunakan peralatan tersebut. Pertama adalah pengoperasian alat, di mana pada alat *sterilwave* harus dilakukan pada temperatur minimal 100°C dengan waktu yang diperlukan minimal selama 30 menit. Kedua, uji validasi. Pengujian ini menggunakan indikator biologis yang memiliki spora, yaitu *Geobacillus stearothermophilus* dengan konsentrasi 1×10^1 spora/mL.

Geobacillus stearothermophilus diklasifikasikan sebagai berikut (Pratama, 2015):

Kingdom : *Bacteria*
Filum : *Firmicutes*
Kelas : *Bacilli*
Ordo : *Bacillales*
Famili : *Bacillaceae*
Genus : *Geobacillus*
Spesies : *Geobacillus stearothermophilus*

G. stearothermophilus termasuk bakteri termofilik fakultatif yang tumbuh optimal di suhu 55°-65°C. Bakteri ini memiliki ciri-ciri berbentuk basil dengan rantai pendek atau tunggal dan bersifat motil menggunakan flagella *peritrichous*, serta tumbuh normal pada kisaran pH optimal 6,2-7,5. *G. stearothermophilus* memiliki spora yang berbentuk ellipsoidal atau endospore silinder per sel dan terletak pada terminal atau subterminal, serta dikategorikan sebagai bakteri gram positif (Blanchard dkk., 2014; Burgess dkk., 2017; Pratama, 2015).



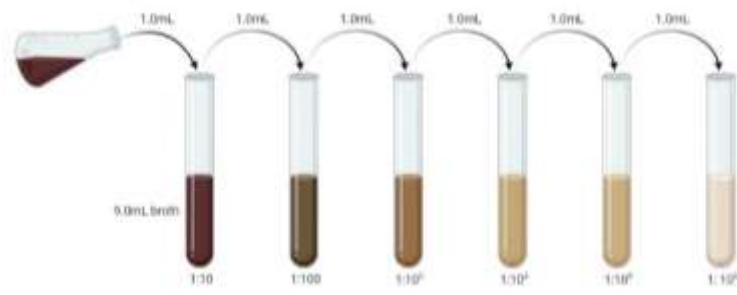
Gambar 1 Koloni Bakteri *Geobacillus stearothermophilus* Pada Media Agar (Khuan, 2024)

Bakteri *G. stearothermophilus* adalah bakteri anaerob fakultatif yang memiliki koloni bakteri dengan ciri koloni, yaitu berbentuk lingkaran, ukuran koloni adalah sekitar 0,5-2 mm, memiliki permukaan yang halus dan mengilap. Selain itu, bakteri ini memiliki masa inkubasi selama 1-2 hari pada media TSA atau *trypticase soy agar* (BacDive, 2023).

2. METODOLOGI

Pengujian ini dilakukan pada alat *Sterilwave 440 HP*, dengan menggantungkan bioindikator hidup berupa mikroorganisme dari kultur bakteri jenis *G. stearothermophilus* dengan konsentrasi sebesar 1×10^1 spora/mL yang ditempatkan dalam tabung reaksi dengan tutup ulir dan digantungkan dalam alat *sterilwave*. Setelah tabung reaksi yang berisikan bioindikator digantung sedalam 75 cm pada alat, selama 30-45 menit dengan suhu $100^{\circ}\text{--}110^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$, bioindikator tersebut

akan dibiakan pada media agar dan diinkubasi selama 48 jam, pada suhu $60^{\circ}\pm 5^{\circ}\text{C}$ sehingga dapat melihat apakah terdapat pertumbuhan bakteri setelah melalui proses sterilisasi atau tidak.



Gambar 1. Skema Pengenceran Bertingkat (Biorender, 2024)

Bioindikator yang digunakan 1×10^7 spora/mL sehingga perlu dilakukan pengenceran secara bertingkat, di mana metode pengenceran yang digunakan adalah 1:10. Pengenceran 1:10 adalah pengenceran dengan mengambil satu bagian dari sampel (1 mL) dengan sembilan larutan pengencer (9 mL) (Cappuccino, 2014). Bioindikator ini perlu diencerkan sebanyak enam kali agar bisa mencapai konsentrasi 1×10^1 spora/mL. Pengenceran ini menggunakan larutan NaCl fisiologis 0,5% untuk menyesuaikan dengan lingkungan dan kondisi bakteri *G. stearothermophilus* (BacDive, 2023). Lalu, sampel yang telah diencerkan akan disimpan dalam tabung ulir agar pada saat uji tidak menguap atau tumpah.

Selanjutnya adalah pembiakan ini menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*) dengan media TSA yang mengacu pada SNI 2332-3-2015 Tentang Cara Uji Mikrobiologi - Bagian 3 Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) Pada Produk Perikanan. Pembiakan ini dilakukan untuk bisa mengetahui pertumbuhan bakteri yang tumbuh dalam media agar dan juga meminimalisi terjadinya kontaminasi. Media TSA dipilih karena menjadi media spesifik untuk bakteri *G. stearothermophilus*. Metode TPC dilakukan dengan 1 mL sampel yang dicampurkan dengan media agar sebanyak 10-12 mL pada cawan petri dan diaduk dengan memutar ke atas-bawah, serta kiri-kanan.

Terakhir adalah uji penegasan, di mana uji penegasan ini dilakukan dengan pewarnaan gram. Pengujian ini dilakukan untuk memvalidkan bahwa bakteri yang digunakan adalah bakteri *G. stearothermophilus*. Pewarnaan bakteri ini dilakukan dengan membuat apusan pada preparat, lalu diberikan pewarna kristal violet sehingga bakteri menjadi berwarna biru yang mengindikasikan bakteri gram positif. Setelah itu, kelebihan warna dicuci dengan menggunakan aquades. Apusan tersebut ditetaskan kembali dengan menggunakan lugol, lalu cuci apusan dengan alkohol 96% dan aquades. Tetesi kembali apusan dengan safranin sehingga bakteri menjadi berwarna merah yang mengindikasikan bakteri gram negatif, lalu cuci kembali dengan aquades (Cappuccino, 2014). Selanjutnya, preparat ditutup dengan cover glass untuk dilakukan identifikasi dengan mikroskop pada perbesaran 100x.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Menurut Bertin (2017), alat *sterilwave* ini terbilang efektif dalam men-inaktivasi mikroorganisme patogen pada limbah padat medis. Akan tetapi, *sterilwave* tetap harus dilakukan uji validasi secara berkala untuk mengetahui kinerja dari alat sterilisasi dan keamanan limbah. Uji validasi ini dilakukan dengan menggunakan bakteri *Geobacillus stearothermophilus* berkonsentrasi 1×10^1

sesuai dengan PerMenLHK No. P.56 Tahun 2015. Percobaan ini dilakukan secara duplo, seperti pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Uji Validasi Bakteri Pada Alat *Sterilwave* 440 HP

Konsentrasi Sampel Uji	Satuan	Sampel Uji			
		TP 1	TP 2	TK 1	TK 2
1×10^3	Spora/mL	–	–	+	+
1×10^2	Spora/mL	–	–	+	+

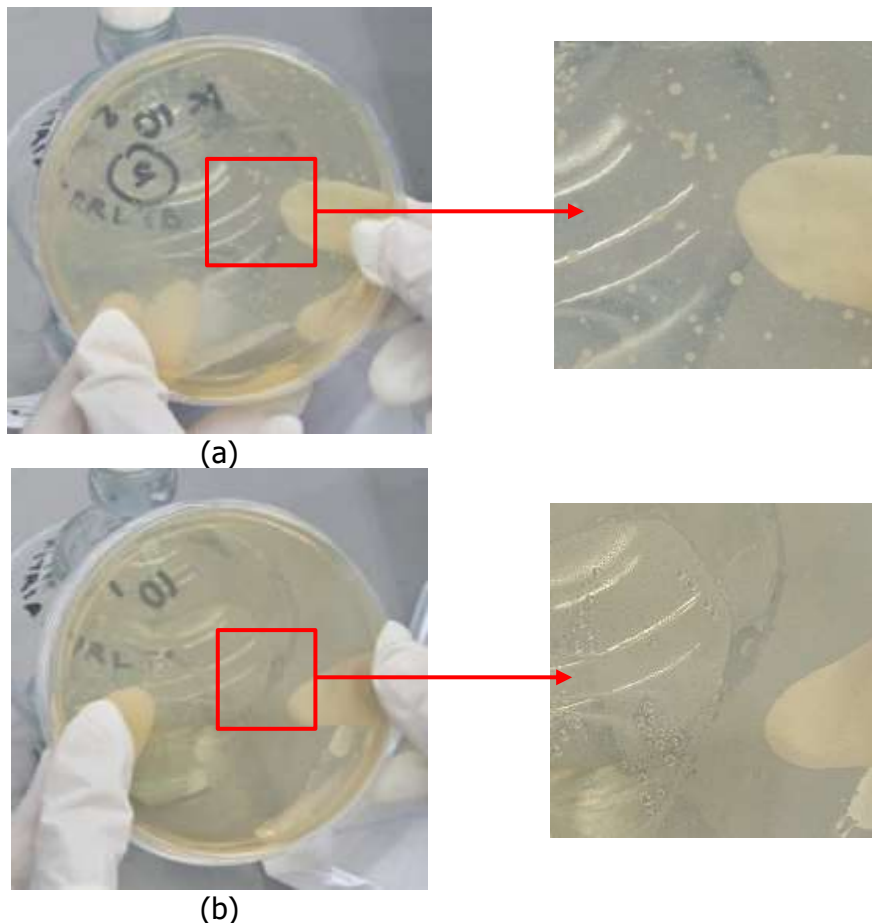
Keterangan: TP = Tabung Perlakuan

TK = Tabung Kontrol

(+) bakteri tumbuh

(–) bakteri tidak tumbuh

Sumber: Hasil Penelitian, 2024

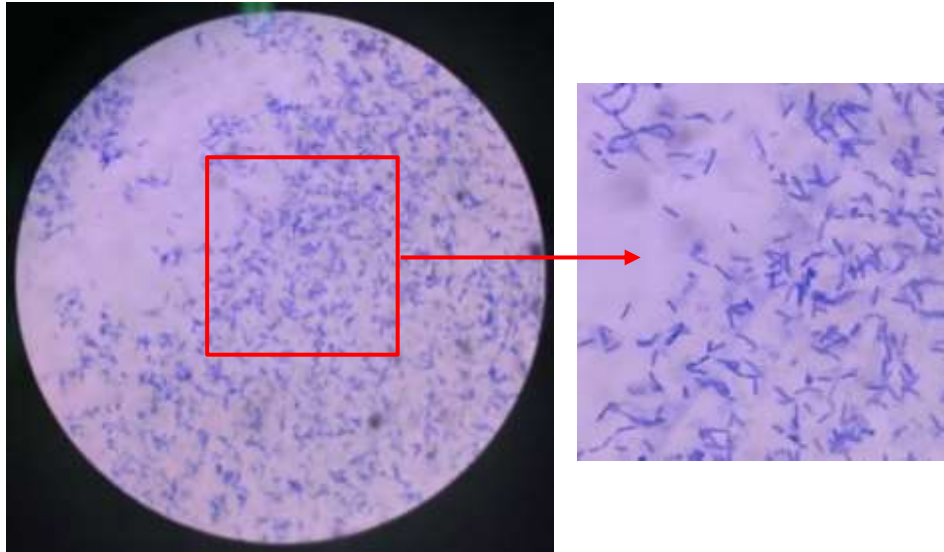


Gambar 2. Hasil Sampel Uji (a) Kontrol dan (b) Uji Validasi Alat Sterilisasi (Hasil Penelitian, 2024)

Berdasarkan pengujian pada **Tabel 1**, sampel uji konsentrasi 1×10^2 dan 1×10^3 spora/mL tidak tumbuh pada tabung perlakuan dan tumbuh pada tabung kontrol, di mana dapat terlihat pada **Gambar 2** poin a menunjukkan sampel uji tabung kontrol terdapat pertumbuhan koloni, sedangkan pada sampel uji tabung perlakuan tidak terdapat koloni. Hal ini disebabkan terdapat perbedaan dalam perlakuan, sampel kontrol ini tidak melalui proses sterilisasi dan hanya

diinkubasi. Sedangkan sampel perlakuan ini melalui proses sterilisasi. Sampel kontrol menjadi acuan dalam uji validasi ini, di mana untuk membuktikan pengaruh alat sterilisasi ini dapat mensterilkan limbah padat medis.

Pada sampel bakteri *G. stearothermophilus* juga dilakukan pewarnaan gram, di mana hal ini dilakukan untuk melakukan validasi bahwa bakteri yang digunakan sesuai dengan morfologi dari bakteri tersebut. Pewarnaan gram ini menggunakan pewarna kristal violet dan safranin, di mana kristal violet ini menunjukkan bakteri gram positif dan safranin menunjukkan bakteri gram negatif.



Gambar 3. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri *G. stearothermophilus* (Hasil Penelitian, 2024)

Berdasarkan hasil pewarnaan gram pada **Gambar 3** menunjukkan bahwa, bakteri *G. Stearothermophilus* ini merupakan bakteri gram positif karena dapat mempertahankan warna kristal violet pada saat pencucian dengan menggunakan alkohol. Selain itu, bakteri ini juga berbentuk basil atau batang yang menjadi ciri dari bakteri jenis *bacillus*. Bakteri ini dipilih untuk menjadi bioindikator karena bakteri nonpatogen dan memiliki spora sehingga lebih aman digunakan untuk melakukan pengujian.

4. KESIMPULAN

Uji validasi alat *sterilwave* yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa pada sampel tabung perlakuan tidak mengalami pertumbuhan koloni. Jika dibandingkan dengan sampel tabung kontrol, yang secara alami akan tumbuh karena tidak melalui proses pemanasan pada suhu dan tekanan tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa alat *sterilwave* 440 HP mampu menginaktivasi mikroorganisme patogen yang terdapat pada limbah padat medis, termasuk bakteri *Geobacillus stearothermophilus* pada suhu $100^{\circ}\text{--}110^{\circ}\pm 5^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit. Serta, limbah padat medis ini dapat dikategorikan limbah padat medis noninfeksius.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Ibu Prof. Dr. Ir Etih Hartati, M.T. dan Ibu Dr. Novi Fitria, S.Si., M.T. selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu dan tenaganya, serta pihak rumah sakit terkait yang telah mengizinkan melakukan penelitian dan pengujian validasi pada alat *sterilwave* 440 HP.

DAFTAR RUJUKAN

- Aini, F. (2019). Pengelolaan Sampah Medis Rumah Sakit atau Limbah B3 (Bahan Beracun dan Berbahaya) di Sumatera Barat. *Jurnal Education And Development*, 7(1), 13-13.
- BacDive. (2023). *Geobacillus stearothermophilus* R-35646 is a facultative anaerobe, chemoorganotroph, spore-forming bacterium that forms circular colonies and was isolated from deteriorated canned food. Retrieved 27 April from <https://bacdive.dsmz.de/strain/1419>
- Bertin. (2017). *Sterilwave 440*. Retrieved 28 Agustus 2023 from <https://www.bertin-medical-waste.com/products/biohazardous-waste-management-systems/sterilwave-250/>
- Biorender. (2024). *Serial Dilution Procedure*. <https://www.biorender.com/template/serial-dilution-procedure-2>
- Blanchard, K., Robic, S., & Matsumura, I. (2014). Transformable facultative thermophile *Geobacillus stearothermophilus* NUB3621 as a host strain for metabolic engineering. *Applied microbiology and biotechnology*, 98, 6715-6723.
- Burgess, S., Flint, S., Lindsay, D., Cox, M., & Biggs, P. (2017). Insights into the *Geobacillus stearothermophilus* species based on phylogenomic principles. *BMC microbiology*, 17, 1-12.
- Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2014). *Microbiology: A Laboratory Manual* (10, Ed.).
- DepKes. (2004). *Keputusan Menteri Kesehatan RI Nomor 1204 Tahun 2004 tentang Persyaratan Kesehatan Lingkungan Rumah Sakit*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan
- Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Nomor P.56 Tahun 2015 tentang Tata Cara Pengelolaan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun (B3) di Fasilitas Pelayanan Kesehatan, (2015).
- Khuan, V. (2024). *Geobacillus Stearothermophilus - NBRC 12550*. <https://www.chungvisinh.com/geobacillus-stearothermophilus-nbrc-12550.html/>
- Kristanti, W., Herniwanti, H., Susmeneli, H., Rahayu, E. P., & Sitohang, N. (2021). Pengelolaan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun (B3) Medis Padat. *HIGEIA (Journal of Public Health Research and Development)*, 5(3).
- Masruddin, M., Yulianto, B., Mulasari, S. A., & Sari, S. I. (2021). Pengelolaan Limbah B3 Fasilitas Pelayanan Kesehatan (Medis Padat) Di Puskesmas X. *PREPOTIF: Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 5(1), 378-386.
- Pratama, J. W. A. (2015). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Kontaminan Geobacillus stearothermophilus Pada Produk Daging Kepiting Kaleng Universitas Airlangga*. Surabaya.
- SNI. (2015). SNI 2332-3-2015 Tentang Cara Uji Mikrobiologi - Bagian 3 Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) Pada Produk Perikanan. In. Jakarta.