

## Uji Antimikroba Minyak dengan Variasi Katalisator Hasil Pengolahan Limbah Medis Padat Pasca Sterilisasi Secara Pirolisis terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Vania Aramintana Alam<sup>1)\*</sup>, Rusdi Hasan<sup>1)</sup>, Keukeu Kaniawati Rosada<sup>1)</sup>, Novi Fitria<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Universitas Padjadjaran

<sup>2)</sup>Badan Riset dan Inovasi Nasional

E-mail: [vaniaaramintanaa@gmail.com](mailto:vaniaaramintanaa@gmail.com); [rusdi@unpad.ac.id](mailto:rusdi@unpad.ac.id); [keukeu@unpad.ac.id](mailto:keukeu@unpad.ac.id); [novie.fitria@gmail.com](mailto:novie.fitria@gmail.com)

### Abstrak

Semakin hari peningkatan limbah medis semakin bertambah seiring dengan pertumbuhan ekonomi. Pengolahan limbah medis dapat dilakukan dengan metode insinerasi, *microwaving*, hingga pirolisis. Dalam proses pirolisis diperlukan katalisator untuk mempercepat reaksinya. Hasil pirolisis dapat berupa cair, padat, dan gas. Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis perbedaan uji resistensi antimikroba dari minyak kontrol dan dengan variasi katalisator hasil pengolahan limbah medis padat pasca sterilisasi dengan metode pirolisis menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang tidak dapat mendegradasi hidrokarbon. Minyak hasil pirolisis limbah medis padat kemudian di uji antimikroba dengan bakteri *S. aureus* dengan metode sumuran. Metode yang digunakan dengan mengukur zona bening yang terbentuk pada media lalu dianalisis dengan uji anova satu arah. Hasil analisis menunjukkan bahwa rata-rata zona bening yang terbentuk dari minyak kontrol, etilen glikol, dan N-Heksana adalah 15,88 mm, 15,06 mm, dan 13,56 mm dimana termasuk ke dalam kategori kuat. Hal ini menunjukkan bahwa sampel minyak hasil pirolisis memiliki aktivitas sensitivitas kuat terhadap bakteri *S. aureus* dan bakteri tidak mendegradasi senyawa hidrokarbon. Hasil analisis statistik menunjukkan nilai 0,247 yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan secara signifikan antara minyak kontrol, minyak etilen glikol, dan minyak N-Heksana terhadap zona bening yang terbentuk dengan bakteri uji.

**Kata kunci:** Antimikroba, Limbah medis padat, Pirolisis, *Staphylococcus aureus*

### Abstract

As economic growth continues, the increase in medical waste is also on the rise. The treatment of medical waste can be carried out through methods such as incineration, microwaving, and pyrolysis. In the pyrolysis process, catalysts are needed to accelerate the reaction. The results of pyrolysis can be in the form of liquid, solid, and gas. The aim of this study is to analyze the differences in antimicrobial resistance tests of control oil and catalytic variations resulting from the treatment of solid medical waste after sterilization using the pyrolysis method, with *Staphylococcus aureus* bacteria that cannot degrade hydrocarbons. The oil obtained from the pyrolysis of solid medical waste was then tested for antimicrobial activity against *S. aureus* using the well diffusion method. The method used involves measuring the clear zones formed on the media and then analyzing them with a one-way ANOVA test. The analysis results showed that the average clear zones formed by the control oil, ethylene glycol, and n-hexane were 15.88 mm, 15.06 mm, and 13.56 mm, respectively, which fall into the strong category. This indicates that the oil samples from the pyrolysis process exhibit strong sensitivity activity against *S. aureus*, and the bacteria do not degrade hydrocarbon compounds. The statistical analysis results showed a value of 0.247, indicating that there was no significant difference between the control oil, ethylene glycol oil, and n-hexane oil in the clear zones formed with the test bacteria.

**Keywords:** Antimicrobial, Solid medical waste, Pyrolysis, *Staphylococcus aureus*

## PENDAHULUAN

Pandemi COVID-19 telah menimbulkan tantangan besar terhadap lingkungan, masyarakat, dan ekonomi. Jumlah limbah medis saat ini meningkat karena adanya COVID-19 dan juga pertumbuhan ekonomi. Saat ini, menurut Badan Pusat Statistik (BPS) dalam Statistik Indonesia 2024, jumlah rumah sakit di Indonesia terdiri atas 2.636 rumah sakit umum dan 519 rumah sakit khusus. Menurut data terbaru, jumlah limbah medis yang diproduksi setiap hari oleh rumah sakit dan puskesmas (pusat kesehatan masyarakat) mencapai sekitar 290 ton. Indonesia memiliki jumlah fasilitas pengolahan limbah medis yang terbatas, dengan hanya 17 fasilitas berlisensi yang mampu menangani kapasitas total sebesar 252,48 ton per hari. Selain itu, hanya 87 rumah sakit yang memiliki insinerator sendiri dengan kapasitas gabungan sekitar 60 ton per hari (Lita, 2020). Pengelolaan limbah medis yang belum optimal ini dikarenakan jumlah dan kapasitas limbah medis yang dihasilkan tidak seimbang dengan pengelola limbah medis. Oleh karena itu, perlu pengolahan limbah medis yang efektif dari perspektif perlindungan lingkungan serta pengendalian dan pencegahan penyakit sangat penting (Fang, 2020).

WHO mengklasifikasikan limbah medis menjadi beberapa macam, yaitu limbah benda tajam, infeksius, patologis, radioaktif, farmasi, dan lainnya (termasuk limbah toilet yang diproduksi di rumah sakit). Sekitar 85% bersifat umum dan 15% adalah limbah infeksius, berbahaya, dan radioaktif (Tsai, 2021). Berdasarkan dengan Peraturan Pemerintah Nomor 22 Tahun 2021 tentang Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup, limbah B3 perlu dikelola sesuai dengan peraturan yang telah ada sehingga pengelolaan lingkungan hidup rumah sakit perlu dilakukan secara sistematis dan berkelanjutan. Dengan demikian perlunya pengolahan limbah medis dengan cara yang efektif (Yurnalisedel, 2023).

Pembuangan dan pengolahan limbah medis dapat dilakukan dengan cara insinerasi, pembuangan langsung ke TPA, desinfeksi kimia, *autoclaving*, dan pirolisis. Pirolisis dianggap sebagai teknologi pembuangan limbah yang potensial dan metode pemulihan energi terbaik, yaitu degradasi termal bahan organik dengan cara memecahkan ikatan kimia secara anaerobic (Athala, 2022). Pirolisis juga dapat menghasilkan produk yang bernilai tinggi dan ramah lingkungan. Dalam prosesnya, pirolisis menggunakan katalisator untuk mempercepat prosesnya. *Bio-oil* yang diperoleh dari pirolisis limbah medis digunakan dapat menggantikan bahan bakar fosil. Proses pirolisis menghasilkan keuntungan ekonomi yang luar biasa dan ramah lingkungan dalam pembuangan limbah padat (Elkhalifa et al., 2019).

Beberapa penelitian telah menguji karakterisasi dari minyak hasil pirolisis limbah medis dengan karakterisasi kimia. Masih terbatasnya kajian mengenai karakterisasi minyak hasil pirolisis dengan parameter biologi, salah satunya dengan uji antimikroba. Pada penelitian sebelumnya, minyak hasil pirolisis diuji dengan bakteri hidrokarbonoklastik (bakteri yang dapat mendegradasi hidrokarbon) sedangkan pada penelitian ini minyak hasil pirolisis diuji dengan bakteri non hidrokarbonoklastik, *Staphylococcus aureus*. Bakteri non hidrokarbonoklastik merupakan bakteri yang tidak memakai sumber karbon sebagai salah satu sumber nutrisi dan energi untuk melakukan metabolismenya (Khanafar et al., 2017).

Uji antimikroba dengan bakteri *S. aureus* ini berfungsi untuk menilai efektivitas antimikroba dan juga sebagai perbandingan uji antimikroba antara bakteri hidrokarbonoklastik dan non-hidrokarbonoklastik. Dengan demikian, diperlukan uji antimikroba pada minyak hasil pirolisis dengan bakteri *S. aureus* untuk melihat efektivitas antimikroba menggunakan bakteri non hidrokarbonoklastik.

## METODE

### Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pusat Riset Lingkungan dan Teknologi Bersih BRIN, Cisitu, Kota Bandung.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, alat tulis, alat sterilisasi, autoklaf, batang *drugalsky*, botol kaca 20 ml, bunsen, cawan petri, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, *hotplate*, inkubator, kaca preparat, label, LAF (Laminar Air Flow), mikropipet, mikroskop, ose, penggaris, penjepit kayu, rak tabung reaksi, sumuran (*cork borer*) 0,6 mm, tabung reaksi, timbangan analitik, tip mikropipet. Sedangkan, bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah akuades, alkohol, biakan bakteri *Staphylococcus aureus*, kristal violet, lugol, media agar NA, media agar NB, NaCl, safranin, serta sampel minyak hasil pirolisis.

### Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini dimulai dari tahap persiapan, yaitu sterilisasi alat dan bahan dengan autoklaf, peremajaan bakteri, pembuatan medium Natrium Agar, dan pengujian kemurnian bakteri dengan pewarnaan Gram. Tahap pengujian antimikroba menggunakan metode sumuran. Bakteri *S. aureus* diinokulasikan pada permukaan NA dengan metode *spread*. Setelah itu, buat bolongan pada media menggunakan *cork borer*. Ketiga jenis sampel minyak yang telah disiapkan lalu dimasukkan ke dalam sumuran dengan mikropipet. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam dalam inkubator.

### Analisis Data

Jenis penelitian ini adalah kuantitatif yang menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor dengan delapan kali pengulangan. Perlakuan yang diberikan adalah minyak kontrol (tanpa katalisator), minyak dengan katalisator etilen glikol, dan minyak dengan katalisator N-Heksana. Parameter yang diukur adalah zona bening yang terbentuk. Setelah itu, zona bening yang terbentuk diukur besarnya lalu dimasukkan ke dalam rumus seperti berikut:

$$\frac{d1+d2}{2} - x \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan:

- D1: diameter vertikal zona bening pada media
  - D2: diameter horizontal zona bening pada media
  - X: lubang sumuran (6 mm)
- (Warbung *et al.*, 2014)

Kategori daya hambat mengacu pada penelitian Surjowardojo & Susilorini (2016) dan Susanto *et al.* (2012) yaitu jika diameter <5 mm (lemah), 6-10 mm (sedang), 11-20 mm (kuat), dan >20 mm (sangat kuat).

Data hasil penelitian dianalisis statistik dengan SPSS 24.0 *for windows*. Analisis statistik dilakukan untuk melihat perbedaan hasil uji antimikroba dari ketiga jenis minyak yang



digunakan, yaitu kontrol, etilen glikol, dan N-Heksana terhadap bakteri *S. aureus*. Uji yang digunakan adalah uji anova satu arah dan apabila terdapat perbedaan yang signifikan, dilanjutkan dengan uji Post Hoc.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengujian Kemurnian Bakteri

Pengujian kemurnian bakteri dilakukan dengan metode pewarnaan Gram lalu dicocokkan dengan literatur. Tabel hasil uji kemurnian bakteri dapat dilihat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Tabel Perbandingan Hasil Pewarnaan Gram Bakteri *S. aureus*

Hasil Penelitian	Literatur Penelitian
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	
1000x	1000x (Marbun et al., 2020)
Keterangan: <ul style="list-style-type: none"><li>• Bakteri Gram Positif</li><li>• Berbentuk <i>coccus</i></li><li>• Berwarna ungu kebiruan</li></ul>	Keterangan: <ul style="list-style-type: none"><li>• Bakteri Gram Positif</li><li>• Berbentuk <i>coccus</i></li><li>• Berwarna ungu</li></ul>

Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif yang akan terlihat berwarna ungu atau ungu kebiruan. Metode pewarnaan menggunakan pewarna kristal violet, yang ditahan oleh dinding sel peptidoglikan tebal oleh bakteri Gram positif sehingga dibawah mikroskop akan terlihat berwarna ungu atau ungu kebiruan (Sizar et al., 2023). Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal daripada bakteri Gram negatif. Struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana dibandingkan Gram negatif yang kompleks. Bakteri Gram positif hanya mempunyai lapisan tunggal pada dinding selnya. Gram positif biasanya memiliki dinding sel yang tidak mudah ditembus oleh agen antimikroba yang dapat membuat pembentukan zona bening menjadi lebih besar dibandingkan dengan bakteri Gram negatif (Lestari et al., 2020).

### Uji Antimikroba

Uji antimikroba dilakukan dengan metode sumuran. Berikut merupakan rata-rata dari zona bening minyak pirolisis limbah medis padat dengan bakteri *S. aureus* pada Tabel 2:

**Tabel 2. Rata-rata Zona Bening**

Bakteri	Rata-rata Zona Bening (mm)		
	Minyak Kontrol	Minyak Etilen Glikol	Minyak N-Heksana
<i>Staphylococcus aureus</i>	15,88 mm (kuat)	15,06 mm (kuat)	13,56 mm (kuat)

Pada bakteri *S. aureus* menunjukkan rata-rata diameter zona bening tertinggi terdapat pada sampel minyak kontrol sebesar 15,88 mm sedangkan rata-rata diameter zona bening terendah terdapat pada sampel minyak N-Heksana sebesar 13,56 mm. Keduanya termasuk ke dalam kategori zona bening kuat sehingga menunjukkan bahwa sampel minyak hasil pirolisis kuat melawan bakteri *S. aureus* yang menyebabkan zona bening yang terbentuk lebih besar. Bakteri *S. aureus* bukan merupakan bakteri hidrokarbonoklastik sehingga zona bening yang terbentuk besar dengan rata-rata 14,83 mm. Bakteri *S. aureus* tidak memakan sampel minyak, karena tidak termasuk ke dalam bakteri hidrokarbonoklastik sehingga memiliki keterbatasan dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon yang ada pada minyak hasil pirolisis. *S. aureus* juga merupakan bakteri Gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal (Lestari et al., 2020).

**Tabel 3. Hasil Uji Anova Satu Arah Zona Bening *S. aureus***

Zona Bening	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<b>Between Groups</b>	22,021	2	11,010	1,494	0,247
<b>Within Groups</b>	154,813	21	7,372		
<b>Total</b>	176,833	23			

Berdasarkan Tabel 3. diatas diperoleh nilai signifikan 0,247 dimana lebih besar dari 0,05 sehingga menunjukkan tidak adanya perbedaan secara signifikan antara zona bening yang terbentuk pada minyak dengan variasi katalisator terhadap minyak kontrol, maka analisis data tidak dilanjutkan dengan uji Post Hoc. Dari Tabel 2. dapat diketahui bahwa minyak N-Heksana merupakan minyak dengan rata-rata zona bening yang paling kecil. Hal ini menunjukkan bahwa minyak dengan N-Heksana bereaksi dengan bakteri *S. aureus*. N-heksana adalah pelarut organik yang cenderung lebih volatil dan mudah menguap dibandingkan etilen glikol. Ini berarti bahwa dalam proses pirolisis, residu N-Heksana lebih sedikit tersisa dalam produk akhir, sehingga mengurangi kontaminasi bahan kimia dalam minyak hasil pirolisis (Cravotto et al., 2022).

Dalam penelitian yang telah dilakukan oleh Abang et al. (2023) yang menguji antimikroba pada polimer dasar THP-PVA dengan bakteri *S. aureus* menunjukkan hasil zona bening sebesar 0,9-8,2 mm yang menunjukkan zona bening lemah-sedang. Uji lainnya juga dengan bahan dasar polimer PLA-PEO/PVP-*collagen* menunjukkan hasil zona bening sebesar 152,7–590,5 mm yang menunjukkan zona bening sangat kuat (Abang et al., 2023). Dari hasil penelitian sesuai dengan dugaan awal bahwa zona bening yang terbentuk akan besar karena bakteri *S. aureus* bukan merupakan bakteri hidrokarbonoklastik sehingga tidak memiliki kemampuan untuk mendegradasi hidrokarbon (Warbung, 2013).

## KESIMPULAN

Terdapat zona bening pada uji antimikroba minyak hasil pirolisis limbah medis padat pada bakteri *S. aureus*. Variasi katalisator etilen glikol dan N-Heksana pada proses pirolisis pengolahan limbah medis padat tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap zona bening pada pengujian antimikroba. Minyak N-Heksana memiliki rata-rata zona bening terendah sebesar 13,56 mm.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada BRIN atas dukungan pembiayaan penelitian ini melalui program TA Mahasiswa. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada Ibu Novi, Pak Rusdi, dan Bu Keukeu sebagai dosen pembimbing atas dukungan, waktu, dan tenaga serta mau diajak berdiskusi selama proses penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abang, S. W. (2023). Bioplastic classifications and innovations in antibacterial, antifungal, and antioxidant applications. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 8(4), 361–387.
- Athala, A. P. (2022). Analisa eksperimen terhadap distribusi produk co-pyrolysis limbah sarung tangan medis dan limbah biomassa. *Jurnal Teknik Kimia*, 28(3), 116–125. <https://doi.org/10.36706/jtk.v28i3.1283>.
- Cravotto C, F.-T. A.-V. (2022). Towards Substitution of Hexane as Extraction Solvent of Food Products and Ingredients with No Regrets. *Foods*, 11(21):3412.
- Elkhalifa, S. A.-A. (2019). Food waste to biochars through pyrolysis: a review. *Conserv. Recycl*, 144, 310e320.
- Fang, S. L. (2020). Study on Pyrolysis Products Characteristics of Medical Waste and Fractional Condensation of the Pyrolysis oil. *Energy*, 195, <https://doi.org/10.1016/j.energy.2020.116969>.
- Khanafer, M. A.-A. (2017). Coliform Bacteria for Bioremediation of Waste Hydrocarbons. *BioMed Research International*, 1-8.
- Lestari, T. R. (2020). Pemanfaatan Lahan Pasca Tambang Timah dengan Budidaya Sawi. *Agrotechnology Research Journal*, 4(1) : 17-21.
- Lita, Y. (2020). *Hingga 2024, KLHK akan Bangun Fasilitas Pengelolaan Limbah B3 Medis di 32 lokasi*. Retrieved from Voa Indonesia: <https://www.voaindonesia.com/> (diakses pada 2 Juli 2024).
- Marbun, R. W. (2020). Pemanfaatan Sari Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas poiret*) Sebagai Zat Pewarna Pada Pewarnaan Gram Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Analis Kesehatan Klinik Sains*, 1, 82-89.
- Sizar O, L. S. (2023). *Gram-Positive Bacteria*. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Surjowardojo, P. T. (2016). Daya Hambat Dekok Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Dan *Streptococcus agalactiae* Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah. In *J. Ternak Tropika*, 17(1).
- Susanto, D. . (2012). Studi Kandungan Bahan Aktif tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula Miq*) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri . 11(2).

- Tsai. (2021). Analysis of medical waste management and impact analysis of COVID-19 on its generation in Waste Manag Res. 39:27–33.
- Warbung, Y. Y. (2014). Daya Hambat Ekstrak Spons Laut. *J Ternak Tropika*, 2(1), 1–15.
- Yurnalisdell. (2023). Analisis Pengelolaan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun (B3) di Indonesia. *Syntax Admiration*, 4(2): 201-208.