

PAPARAN KADMIUM MEMPERPANJANG LAG PHASE DAN MENINGKATKAN RESISTENSI BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SECARA DOSE DEPENDENT.

Bangkit Brilliant Fauzi, Noer Aini, Rio Risandiansyah*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (UNISMA)

ABSTRAK

Pendahuluan : Kontaminasi kadmium emisi pabrik, rokok, limbah baterai *nickel-cadmium*, dan pupuk fosfat dikenal dapat menyebabkan mutasi DNA dan kerusakan yang memicu resistensi antibiotik. Namun paparan kadmium pada masa pertumbuhan dan resistensi antibiotik terhadap bakteri *S.aureus* belum diketahui sehingga perlu diteliti.

Metode: Penelitian *in vitro* dilakukan pada bakteri *S. aureus* yang dipapar kadmium dosis bertingkat dari 0,05 ppm hingga 3,2 ppm dan diamati selama 24 jam. Pertumbuhan *lag phase* *S. aureus* dievaluasi pada media LB4x dengan spektrofotometri pada 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90 menit, dan pada jam ke 2, 4, 8, 10, 12, 16, 20, dan 24. Zona hambat pertumbuhan dan sensitivitas antibiotik diukur dengan metode Kirby-Bauer pada 5 antibiotik dengan pengulangan 3 kali pada satu waktu penelitian. Hasil dianalisis dengan uji Kruskal wallis dan *post hoc test*, dengan $p < 0,01$ dianggap signifikan.

Hasil: Paparan kadmium secara *dose dependent* menyebabkan pemanjangan fase lag ($p < 0,05$) dengan nilai LE > 1 . Uji sensitivitas menunjukkan penurunan sensitivitas antibiotik dibandingkan tanpa perlakuan pada paparan kadmium 3,2 ppm terhadap antibiotik kloramfenikol pada pengamatan jam ke 24 ($24,5 \pm 0,11$ vs $26,3 \pm 0,35$, $p < 0,1$). Pada jam ke 48 didapatkan toleransi kloramfenikol pada dosis paparan 0,8 ppm ($18,3 \pm 0,28$ vs $20 \pm 1,34$, $p < 0,1$) dan toleransi tetrasiklin pada dosis 3,2 ppm ($25,2 \pm 0,05$ vs $21,5 \pm 0,05$, $p < 0,1$). Hal ini terjadi karena adanya *random mutation* pada bakteri dan respon bakteri yang berbeda pada tiap konsentrasi kadmium.

Kesimpulan: Paparan kadmium menyebabkan pemanjangan fase lag secara *dose dependent* pada kurva pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan penurunan sensitivitas terhadap antibiotik kloramfenikol serta menyebabkan toleransi pada kloramfenikol dan tetrasiklin.

Kata Kunci: Resistensi antibiotik, Fase lag, Paparan kadmium, *Staphylococcus aureus*.

*Koresponden : Rio Risandiansyah

Jl. MT Haryono 193, Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

e-mail : riorisandiansyah@unisma.ac.id

EXPOSURE TO CADMIUM PROLONGS LAG PHASE AND INCREASES RESISTANCE OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN A DOSE DEPENDENT MANNER.

Bangkit Brilliant Fauzi, Noer Aini, Rio Risandiansyah*
Medical Faculty of University Islam Malang (UNISMA)

ABSTRACT

Introduction : Cadmium contamination from factory emissions, cigarettes, nickel-cadmium battery waste, and phosphate fertilizers are known to cause DNA mutations and damage that triggers antibiotic resistance. However exposure to cadmium during growth and antibiotic resistance to *S. aureus* bacteria are not yet known, so research needs to be done.

Methods: In vitro study using *S. aureus* bacteria exposed to cadmium in graded doses from 0,05 ppm to 3,2 ppm and observed for 24 hours. The growth of the lag phase of *S. aureus* was evaluated using LB4x media with spectrophotometry every 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90 minutes, and 2, 4, 8, 10, 12, 16, 20, and 24 hours. Growth inhibition zones and antibiotic sensitivity were measured using the Kirby-Bauer method on 5 antibiotics, the study was repeated 3 times at one time. The results were analyzed using the Kruskal Wallis test ($p < 0.05$) and the post hoc test.

Results: Exposure to cadmium in a dose-dependent manner experienced a extension of the lag phase ($p < 0.05$) with LE value > 1 . Sensitivity test showed a decrease in sensitivity compared to no treatment at 3.2 ppm Cd exposure to chloramphenicol exposure at 24 hour observation (24.5 ± 0.11 vs 26.3 ± 0.35 , $p < 0.1$) while at the 48 hour observation there was tolerance at a concentration of 0.8 ppm to chloramphenicol (18.3 ± 0.28 vs 20 ± 1.34 , $p < 0.1$) and a concentration of 3.2 ppm to tetracycline (25.2 ± 0.05 vs 21.5 ± 0.05 , $p < 0.1$). This happens because of random mutations in bacteria and different bacterial responses at each concentration of cadmium.

Conclusion : Exposure to cadmium at doses of 0.05 ppm to 3.2 ppm caused a dose-dependent extension of the lag phase on the growth curve of *S. aureus* bacteria and decreased sensitivity to chloramphenicol as well as tolerance to chloramphenicol and tetracycline on exposure to Cd 0.8 and 3.2 ppm.

Keywords: Antibiotic resistance, Lag phase, Cadmium exposure, *Staphylococcus aureus*.

*Corresponding : Rio Risandiansyah

MT Haryono St., 193 Malang, East Java, Indonesia, 65145

e-mail: riorisandiansyah@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Polusi di dunia akibat oleh emisi pabrik dapat beresiko pada permasalahan kesehatan¹. Permasalahan kesehatan yang muncul akibat polusi antara lain infeksi pernafasan dan kanker². Polusi akibat logam berat lebih berbahaya karena bersifat *carcinogenic* yang memicu kanker salah satunya adalah kadmium³.

Kadmium adalah logam berat yang memiliki sifat karsinogenik, mutagenik dan teratogenik pada beberapa jenis makhluk hidup⁴. Sumber utama kadmium pada lingkungan adalah dari proses *smelting* dan *refining* pada pabrik pembuatan pipa PVC dan baterai *nickel-cadmium*². Sifat kadmium yang karsinogenik dapat menyebabkan peningkatan radikal bebas dan mutasi DNA, hal ini akan menyebabkan perubahan pertumbuhan dan resistensi terhadap antibiotik termasuk pada organisme bakteri *S. aureus*⁵.

S. aureus merupakan normal flora di kulit yang dapat berubah menjadi bakteri patogen jika pertumbuhannya meningkat³. *S. aureus* merupakan penyebab penyakit kulit seperti vaskulitis, impetigo, furunkel dan karbunkel⁴. Penyakit ini memiliki prevalensi yang tinggi pada negara berkembang seperti Indonesia, fenomena penggunaan antibiotik lokal maupun sistemik yang tidak sesuai dengan anjuran dokter dapat meningkatkan resistensi antibiotik. Paparan kadmium yang masuk ke dalam sel dapat menginisiasi *DNA Damage* dan mutasi yang ditandai oleh pemanjangan fase lag sehingga memicu resistensi terhadap antibiotik⁶.

Penelitian tentang paparan logam berat (Cu, Zn, Hg, dan Ag) terhadap resistensi antibiotik pada bakteri *E. coli* sudah dilakukan dengan hasil bahwa paparan logam berat memperpanjang fase lag bakteri⁷, namun penelitian sebelumnya tidak menggunakan bakteri *S. aureus* dan logam berat kadmium. Pada penelitian sebelumnya berhenti pada hasil pemanjangan fase lag sedangkan metode yang digunakan pada penelitian ini menggunakan metode *Turbidimetric* dan uji sensitivitas menggunakan metode *Kirby-Bauer*.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat, Waktu Penelitian, dan Sampel penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vitro* menggunakan bakteri *S. aureus* yang didapat dari biakan lokal Fakultas Kedokteran Univ. Islam Malang dengan kode strain VT00324. Kadmium yang digunakan

adalah $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ MERCK. Penelitian dilakukan di Laboratorium Pusat Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, pada bulan Maret 2021.

Persiapan Pra Penelitian

Persiapan Pra Penelitian terdiri atas penyiapan stok bakteri, pembuatan stok logam berat kadmium dan pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) merk Oxoid dan *Lactose Broth* 4x konsentrasi (LB 4x) merk Oxoid. MHA dibutuhkan pada metode *Kirby-Bauer* untuk menentukan fase lag bakteri, *Lactose Broth* 4x dibutuhkan pada *wellplate* untuk menentukan sensitivitas antibiotik.

Penentuan Fase Lag Bakteri

Kurva pertumbuhan diukur dengan metode *Turbidimetric method*. Awalnya media LB dibuat dengan 4 kali konsentrasi karena adanya pengenceran ketika di-*plating* ke dalam *wellplate*. *S. aureus* dimasukkan ke dalam *wellplate* dengan pola tertentu diikuti dengan logam berat kadmium dengan 7 konsentrasi dan 3 pengulangan. *Wellplate* dimasukkan ke dalam spektrofotometri dan dinilai pada 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90 menit, dan jam ke 2, 4, 8, 10, 12, 16, 20, dan 24. Waktu lag fase ditentukan dalam jam yang kemudian ditabulasikan dalam bentuk gambar dan dianalisa.

Uji Sensitivitas Antibiotik

Pengujian sensitivitas antibiotik dilakukan menggunakan metode *Kirby-Bauer* dengan pemaparan cakram antibiotik merk Oxoid United Kingdom yakni amoxicilin, tetrasiklin, kloramfenikol, meropenem, dan trimetopim. Pengambilan data dilakukan 24 jam dan 48 jam post inokulasi pada cawan petri.

Analisa Data

Data yang diperoleh ditabulasi dan diuji dengan uji Kruskal wallis dan *post hoc test* dan signifikansi ditetapkan pada 0,01.

HASIL

Kurva Pertumbuhan Bakteri *S. aureus* yang Dipapar Kadmium.

Hasil absorbansi pertumbuhan *S. aureus* didasarkan pada **gambar 1**. *Staphylococcus aureus* yang tidak dipapar kadmium (kontrol) mengalami fase lag mulai jam ke 0 hingga jam ke 8 kemudian masuk ke fase log pada jam ke 8 hingga jam ke 12. Fase stasioner dimulai pada jam ke 14 hingga ke jam 24 yang menunjukkan hasil absorbansi tertinggi pada fase stasioner yakni $0,53 \pm 0,05$ (**gambar 1**).

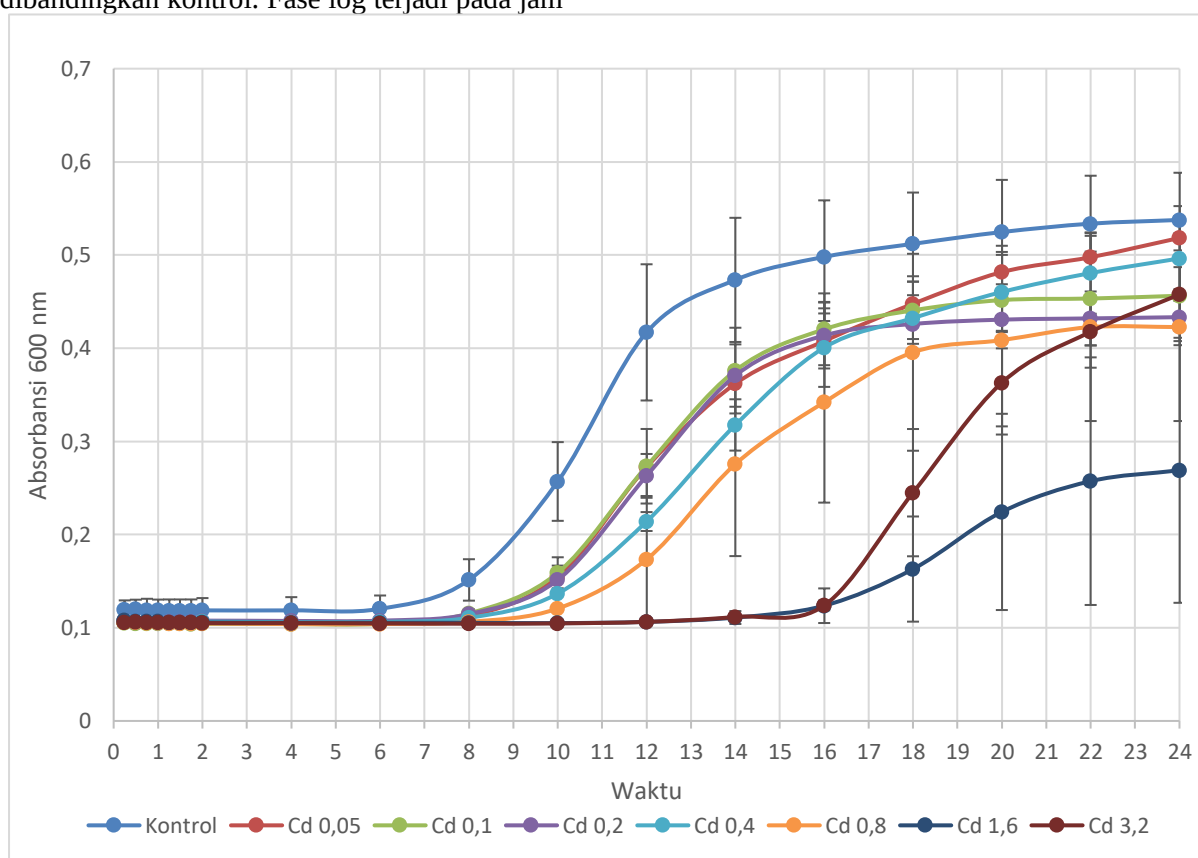
Semua kelompok perlakuan mengalami pemanjangan fase lag dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada paparan kadmium dengan konsentrasi 0,05 ppm ; 0,1 ppm ; dan 0,2 ppm terjadi pemanjangan fase lag hingga jam ke 10 dan fase log hingga jam ke 14. Absorbansi maksimal terjadi pada jam ke 24 untuk ke tiga konsentrasi tersebut berturut-turut sebagai berikut, 0,05 ppm ($0,51 \pm 0,051$) ; 0,1 ppm ($0,45 \pm 0,045$) ; dan 0,2 ppm ($0,43 \pm 0,043$).

Pada konsentrasi 0,4 ppm dan 0,8 ppm didapatkan pemanjangan fase lag hingga jam ke 12. Absorbansi pada jam ke 12 untuk kedua konsentrasi ini kecenderungan berbeda dibandingkan kontrol. Fase log terjadi pada jam

ke 12 hingga jam ke 18. Absorbansi tertinggi pada jam ke 24 yakni $0,49 \pm 0,049$ pada sampel 0,4 ppm dan $0,42 \pm 0,042$ pada sampel 0,8 ppm.

Pada sampel paparan kadmium dengan konsentrasi 1,6 ppm dan 3,2 ppm terjadi pemanjangan fase lag hingga jam ke 16, fase log terjadi hingga jam ke 22 dan memulai fase stasioner pada jam ke 22 hingga jam ke 24.

Dari data diatas dapat disimpulkan bahwa absorbansi tertinggi pada pengamatan jam ke 24 yakni $0,26 \pm 0,026$ pada konsentrasi 1,6 ppm dan $0,45 \pm 0,045$ pada konsentrasi 3,2 ppm. Absorbansi maksimal dari kedua konsentrasi ini lebih kecil daripada kontrol.



Gambar 1 kurva pertumbuhan *S. aureus* yang dipapar kadmium berbagai konsentrasi

Keterangan : Grafik menunjukkan perbandingan pertumbuhan *S. aureus* tanpa dipapar kadmium dan kelompok perlakuan. Pada 7 konsentrasi yakni 0,05 ppm ; 0,1 ppm ; 0,2 ppm ; 0,4 ppm ; 0,8 ppm ; 1,6 ppm ; dan 3,2 ppm yang telah diuji dengan statistik non parametrik kruskal wallis ($p < 0,05$).

Durasi pemanjangan fase lag dapat diketahui dari perhitungan *Lag Extension* (LE). Nilai $LE > 1$ menunjukkan bahwa kurva pertumbuhan mengalami pemanjangan fase lag dibandingkan dengan kelompok kontrol (**gambar1**).

Berdasarkan gambar 1 diketahui bahwa pemanjangan fase lag melalui nilai *Lag Extension* (LE) pada konsentrasi 0,05 ; 0,1 dan 0,2 yakni 1,25 dilanjutkan konsentrasi 0,4 dan 0,8

yakni 1,5 dan pada dua konsentrasi tertinggi 1,6 dan 3,2 ppm memiliki nilai $LE=2$. Nilai $LE > 1$ mengartikan bahwa kurva mengalami pemanjangan fase lag.

Hasil dari data absorbansi menunjukkan bahwa terdapat kecenderungan pemanjangan fase lag pada kelompok perlakuan terhadap kontrol ($LE > 1$). Nilai LE terbesar didapatkan pada kelompok konsentrasi 1,6 dan 3,2 ppm ($LE= 2$) .

Tabel 1 ZOI *S. aureus* terhadap antibiotik Amoxicillin, Kloramfenikol, Meropenem, Tetrasiklin dan Trimetropim pada jam ke 24

Diameter zona hambat (mm)					
Hasil (ppm)	Amoxicillin (mean ± SD)	Kloramfenikol (mean ± SD)	Trimetropim (mean ± SD)	Tetrasiklin (mean ± SD)	Meropenem (mean ± SD)
Kontrol	38,5 ± 5,2	26,3 ± 0,35	24,6 ± 0,92	32,9 ± 2,9	37,9 ± 2,3
0,05	39,3 ± 1,3	26,3 ± 0,8	23,4 ± 0,72	30,2 ± 1	39,5 ± 0,55
0,1	40,2 ± 2,2	25,8 ± 0,25	24,5 ± 0,2	34,6 ± 0,2	40,4 ± 0,4
0,2	44,4 ± 1,2	23,6 ± 0,91	25,8 ± 0,6	34,9 ± 2,4	39,6 ± 0,5
0,4	41,6 ± 0,6	24,8 ± 1,9	25,3 ± 1	34,3 ± 3,3	40,8 ± 2,6
0,8	40,4 ± 0,9	32,3 ± 0,75	24,2 ± 0,7	28 ± 1,5	34,4 ± 1,6
1,6	41,3 ± 0,1	25,2 ± 0,2	22,4 ± 0,26	30,4 ± 0,2	38,6 ± 0,15
3,2	40,6 ± 0,9	24,5 ± 0,11 *	22,7 ± 0,25	33,3 ± 0,1	37,8 ± 0,5

Keterangan : Tabel 1 merupakan hasil ZOI *S. aureus* terhadap antibiotik. Data berupa diameter zona bening yang terjadi akibat cakram antibiotik pada kultur *S. aureus* di cawan petri, dan diambil pada jam ke 24. Dilakukan uji statistik Kruskal wallis ($p < 0,1$). Notasi (*) menunjukkan adanya perbedaan signifikan.

Uji Zone of Inhibition *Staphylococcus aureus* yang terpapar Kadmium terhadap antibiotik Amoxicillin, Kloramfenikol, Meropenem, Tetrasiklin, dan Trimetropim.

S. aureus pada kelompok perlakuan yang mengalami pemanjangan fase lag dengan nilai LE lebih dari 1 diuji sensitifitasnya terhadap cakram antibiotik Amoxicillin, Kloramfenikol, Meropenem, Tetrasiklin dan Trimetropim kemudian dibandingkan dengan kelompok

kontrol. Perhitungan ZOI dilakukan pada jam ke 24 untuk menilai sensitifitas (**tabel 1**).

Pada ZOI *S. aureus* konsentrasi 3,2 ppm pada jam 24 didapatkan perbedaan yang signifikan terhadap antibiotik kloramfenikol, sedangkan pada pengamatan *S. aureus* konsentrasi 0,8 ppm didapatkan perbedaan pada antibiotik kloramfenikol ($p < 0,1$) dan konsentrasi 3,2 ppm terhadap antibiotik Tetrasiklin ($p < 0,1$) pada jam ke 48 (**tabel 2**).

Tabel 2 ZOI *S. aureus* terhadap antibiotik Amoxicillin, Kloramfenikol, Meropenem, Tetrasiklin dan Trimetropim pada jam ke 48.

Diameter zona hambat (mm)					
Hasil (ppm)	Amoxicillin (mean ± SD)	Kloramfenikol (mean ± SD)	Trimetropim (mean ± SD)	Tetrasiklin (mean ± SD)	Meropenem (mean ± SD)
Kontrol	28,3 ± 4,7	20 ± 1,34	18,1 ± 1,21	21,5 ± 1,2	30,9 ± 4,0
0,05	28,7 ± 0,5	19,2 ± 0,6	17,4 ± 0,3	19,9 ± 0,61	26,7 ± 0,25
0,1	30,5 ± 6,7	22,5 ± 3,7	22 ± 2,4	25,8 ± 7,8	32,3 ± 6,5
0,2	29,1 ± 1,1	16,4 ± 3,1	18,1 ± 3,7	23,7 ± 1,7	29 ± 1,5
0,4	29,1 ± 2,9	13,1 ± 8,9	18,8 ± 3,2	22,2 ± 2,1	29,6 ± 4,2
0,8	26,3 ± 0,15	18,3 ± 0,28 *	17 ± 0,62	23,2 ± 2,6	23,6 ± 2,1
1,6	31,4 ± 0,52	21,2 ± 0,52	19,4 ± 0,3	26,0 ± 0,8	28,7 ± 0,41
3,2	34,3 ± 6,6	20,4 ± 1,6	17,3 ± 0,37	25,5 ± 0,05 *	28,7 ± 0,9

Keterangan : Tabel 2 merupakan hasil ZOI *S. aureus* terhadap antibiotik. Data berupa diameter zona bening yang terjadi akibat cakram antibiotik pada kultur *S. aureus* di cawan petri, dan diambil pada jam ke 48. Dilakukan uji statistik Kruskal wallis ($p < 0,1$). Notasi (*) menunjukkan adanya perbedaan signifikan.

PEMBAHASAN

Peran Paparan Kadmium pada Fase Lag *S. aureus*.

Proses pertumbuhan bakteri memiliki pola tertentu yang membentuk suatu kurva pertumbuhan bakteri yakni fase lag, fase log, fase stasioner dan fase kematian. Fase lag didefinisikan sebagai periode inisiasi dalam kehidupan bakteri ketika penyesuaian terhadap lingkungan baru sebelum memulai fase eksponensial / Log. Proses fase lag ini ditandai dengan *upregulation* dan *downregulation* dimana *upregulation* terjadi pada peningkatan transkripsi dari metabolisme nukleotida, biosintesis lipopolisakarida, dan biosintesis asam lemak. *Downregulation* terjadi pada gen enzim yang bertanggung jawab memediasi pembentukan gula (*glukoneogenesis*)⁷.

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa terjadi pemanjangan fase lag pada kelompok perlakuan dibandingkan kontrol ($p < 0,1$). Kadmium yang masuk ke dalam bakteri *S. aureus* akan membuat sel tidak stabil karena sifatnya yang reaktif dan mudah menempel sehingga dapat menyebabkan ketidakstabilan sel bahkan dalam konsentrasi tertentu dapat menyebabkan kematian sel⁸. Keadaan tersebut membuat kerusakan DNA yang menginisiasi *SOS Response*. *SOS Response* dimulai dari pembentukan filamen RecA dan LexA yang mana hal tersebut akan diartikan sebagai Gen SifA, RecX, Umu C, dan Umu D⁷. Gen Umu C dan D merupakan gen *DNA Repair* yang tinggi kesalahan sehingga terjadi mutasi yang membuat bakteri bertahan di lingkungan tersebut.

Selain gen *DNA Repair* yang telah dijelaskan, *DNA Damage* juga membentuk gen Oxy-R dan SoxS⁸. Gen tersebut akan disekresi dalam waktu 4 hingga 20 menit ketika fase lag berlangsung tergantung besar kerusakan yang terjadi pada sel⁹. OxyR juga bertanggung jawab dalam *DNA Repair* yang terjadi di fase lag, dimana OxyR akan mengekspresikan *endonuklease III* dan *exonuklease II* dalam memperbaiki DNA yang rusak¹⁰. Protein yang rusak hasil *DNA repair* akan didegradasi melalui HsIUUV dan *Lon protease*, dimana gen tersebut mengalami puncak sekresi di menit ke 4 hingga 120 setelah diinokulasikan. Hal ini sesuai dengan hipotesis bahwa jika terjadi pemanjangan fase lag, maka diduga terjadi proses persiapan seperti perubahan metabolisme, peningkatan ekspresi gen tertentu, pengambilan *trace element* dan *DNA Repair*¹⁰. Dari penelitian ini, hasilnya sesuai

dengan penelitian sebelumnya dimana paparan logam berat dapat memanjangkan fase lag pada kurva pertumbuhan.

Pada fase lag juga terdapat peningkatan gen yang bertanggung jawab terkait penyerapan dan penyimpanan zat besi (Fe). Gen tersebut berguna untuk mengikat dan memasukkan Fe dari luar ke dalam tubuh sel bakteri melalui sintesis *Fe-S cluster* dimana sebelumnya Fe diikat oleh sideropore¹¹. Sel bakteri memiliki cara untuk memasukkan *trace element* ke dalam tubuhnya menggunakan mekanisme *Siderophore Binding Protein (SBP)*⁷. *Siderophore* disekresikan dengan afinitas yang tinggi terhadap ion Fe^{2+} dan terdapat dua jenis Sideropore yakni *staphyloferrin A* dan *B*. Jika Fe^{2+} sudah membuat kompleks bersama sideropore maka Fe dapat masuk ke dalam sel bakteri *S. aureus*¹².

Dalam hal ini, keadaan lingkungan sangat berpengaruh terhadap masuknya *trace element*. Pada penelitian sebelumnya dijelaskan bahwa sideropore yang disekresikan bakteri memiliki ikatan koordinasi dengan unsur Fe, namun dapat terjadi *crosslinking* dari sideropore ke unsur lain yakni Zn(II), Cd(II), dan La (III)¹. *Crosslinking* ini terjadi akibat ujung dari sideropore ada unsur baru yang menempati salah satunya adalah Cd(II), sehingga ketika sideropore masuk ke dalam bakteri, unsur kadmium ikut masuk ke dalam sel¹³. Proses masuknya sideropore ini terjadi ketika fase lag, dimana semakin banyak Fe yang masuk maka semakin banyak pula kadmium di dalam sel¹⁰.

Efek Paparan Kadmium pada Uji sensitivitas dan toleransi pada sampel bakteri yang mengalami pemanjangan fase lag

Hasil penelitian didapatkan bahwa paparan kadmium konsentrasi 3,2 ppm (24 jam) mengalami resistensi signifikan ($p < 0,1$) pada antibiotik kloramfenikol, hal ini sesuai dengan dugaan bahwa kerusakan DNA *S. aureus* akibat paparan kadmium menyebabkan mutasi dan berakibat timbulnya resistensi *S. aureus* pada kloramfenikol¹⁴.

Kloramfenikol merupakan antibiotik yang mempunyai mekanisme kerja yakni berikatan pada ribosom sub-unit 50 S dan mempengaruhi *peptidil transferase* yang melekat pada tRNA. Ribosom sub unit 50S bertanggung jawab untuk menggabungkan hasil asam amino hingga menjadi protein yang lebih kompleks agar dapat menjadi protein yang aktif¹. Jika sub unit ini dihambat, maka proses penggabungan hasil translasi akan menurun, sehingga meskipun

terjadi proses sintesis protein, namun pada saat penggabungan hasil asam amino tidak terjadi yang dapat berakibat proses metabolisme menurun dan terjadi kematian sel⁹

Resistensi antibiotik merupakan kemampuan bakteri untuk tetap bertahan dalam keadaan paparan antibiotik tertentu¹⁵. Kemampuan ini disebabkan adanya mutasi dan penyesuaian metabolisme dari sel bakteri terhadap lingkungannya. Mekanisme resistensi antibiotik pada bakteri memiliki beberapa cara antara lain adalah mencegah masuknya antibiotik, mengubah target antibiotik, pengeluaran antibiotik dari sel, merusak zat aktif dari antibiotik dan dengan *upregulation* mekanisme tertentu untuk tetap bertahan hidup³.

Mekanisme resistensi antibiotik kloramfenikol adalah dengan mengubah sisi aktif dari target dan meningkatkan pengeluaran antibiotik melalui *efflux pump*. Pada penelitian ini, diduga mutasi yang terbentuk tidak masif sehingga resistensi yang terjadi adalah perubahan sisi aktif ribosom¹⁴

Hasil penelitian ZOI *S. aureus* di pengamatan 48 jam, paparan kadmium 0,8 ppm terhadap tetrasiklin mengalami toleransi yang signifikan.

Tetrasiklin berikatan pada sub-unit 30 S yang menempel pada mRNA. Sub unit 30S berperan dalam fase elongasi dengan memproduksi aminoasil t-RNA. Efek dari tetrasiklin menyebabkan produksi aminoasil t-RNA akan menurun sehingga menghambat pemanjangan rantai peptida yang berakibat kematian sel¹⁷. Adanya respon toleransi dari *S. aureus* yang membutuhkan waktu lebih lama untuk beradaptasi terhadap paparan kadmium¹⁴ sehingga diduga menyebabkan tidak terjadinya penurunan toleransi pada pengamatan jam ke 24.

Hasil penelitian ZOI *S. aureus* 3,2 ppm kadmium (24 jam) dan 0,8 ppm (48 jam) terjadi penurunan toleransi terhadap kloramfenikol ($p < 0.1$). Hal ini diduga karena tidak memiliki pola tertentu, dan tidak terjadinya *dose dependent* yang kemungkinan disebabkan *random mutation* dan tidak semua ulangan mengalami mutasi sehingga hasil ZOI tidak dipengaruhi oleh tinggi nya konsentrasi kadmium.

Meskipun penelitian ini menarik, namun ada beberapa kekurangan penelitian yaitu jumlah ulangan yang kurang, bakteri yang digunakan adalah non patogen, dan kadmium yang digunakan adalah kadmium nitrat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan diatas dapat disimpulkan bahwa:

1. Paparan kadmium secara *Dose Dependent* menyebabkan pemanjangan fase lag pada kurva pertumbuhan bakteri *S. aureus*.
2. Paparan kadmium 3,2 ppm pada 24 jam menyebabkan penurunan sensitivitas *S. aureus* terhadap antibiotik kloramfenikol.
3. Paparan kadmium 0,8 ppm pada 48 jam terhadap antibiotik kloramfenikol menyebabkan penurunan sensitivitas *S. aureus*.
4. Paparan kadmium 3,2 ppm pada 48 jam terhadap antibiotik tetrasiklin menyebabkan perubahan sensitivitas *S. aureus*.

SARAN

Untuk penelitian lanjutan berdasarkan penelitian dapat disarankan untuk :

1. Melakukan penelitian pengaruh paparan logam berat terhadap resistensi antibiotik dengan penambahan ulangan 3 sampel dalam 2 waktu yang berbeda.
2. Melakukan penelitian pengaruh paparan logam berat terhadap resistensi antibiotik dengan bakteri gram yang berbeda untuk melihat respon bakteri lain.
3. Melakukan metode MIC pada penelitian serupa untuk melihat efektivitas metode lain.
4. Menambahkan Fe pada uji sensitivitas metode *kirby-bauer*
5. Melakukan *DNA sequencing* pada *S. aureus* untuk mengetahui mutasi yang terjadi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ikatan Orangtua Mahasiswa (IOM) dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang atas pendanaan penelitian dan dr. Rahma Triliana, M.Kes, Ph.D sebagai *Peer Reviewer*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hussey SJK, Purves J, Allcock N, Fernandes VE, Monks PS, Ketley JM, et al. Air pollution alters *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* biofilms, antibiotic tolerance and colonisation. **Environ Microbiol.** 2017;19(5):1868–80.
2. Adedeji OM AA. Modification of Cell Wall Degrading Enzymes from Soursop (*Annona muricata*) Fruit Deterioration for Improved Commercial Development of Clarified Soursop Juice (A Review). **Med Aromat**

- Plants.** 2014;04(01):1–5.
3. Seiler C, Berendonk TU. Heavy metal driven co-selection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture. **Front Microbiol.** 2012;3(DEC):1–10.
4. Genchi G, Sinicropi MS, Lauria G, Carocci A, Catalano A. The Effects of Cadmium Toxicity. **Int J Environ Res Public Health.** 2020 May;17(11).
5. Cho S, Nguyen HAT, McDonald JM, Woodley TA, Hiott LM, Barrett JB, et al. Genetic characterization of antimicrobial-resistant escherichia coli isolated from a mixed-use watershed in northeast Georgia, USA. **Int J Environ Res Public Health.** 2019;16(19):1–14.
6. Gikas P, Sengör SS, Ginn T, Moberly J, Peyton B. The effects of heavy metals and temperature on microbial growth and lag. **Glob Nest J.** 2009;11(3):325–32.
7. Li B, Qiu Y, Shi H, Yin H. The importance of lag time extension in determining bacterial resistance to antibiotics. **Analyst.** 2016;141(10):3059–67.
8. Lemire JA, Harrison JJ, Turner RJ. Antimicrobial activity of metals: Mechanisms, molecular targets and applications. **Nat Rev Microbiol.** 2013;11(6):371–84.
9. Li X, Gu AZ, Zhang Y, Xie B, Li D, Chen J. Sub-lethal concentrations of heavy metals induce antibiotic resistance via mutagenesis. **J Hazard Mater.** 2019;369(January):9–16.
10. Dadan rosana. Modul Mikrobiologi Dasar. 2014;26.
11. Silver S, Phung LT. Bacterial heavy metal resistance: new surprises. **Annu Rev Microbiol.** 1996;50:753–89.
12. Brackman G, Breyne K, De Rycke R, Vermote A, Van Nieuwerburgh F, Meyer E, et al. The Quorum Sensing Inhibitor Hamamelitannin Increases Antibiotic Susceptibility of Staphylococcus aureus Biofilms by Affecting Peptidoglycan Biosynthesis and eDNA Release. **Sci Rep.** 2016;6(September 2015):1–14.
13. BPOM. Laporan Kinerja Badan Pengawasan Obat dan Makanan. 2014;
14. Satarug S, Garrett SH, Sens MA, Sens DA. Cadmium, environmental exposure, and health outcomes. **Environ Health Perspect.** 2010;118(2):182–90.