

ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERIAL *Pseudomonas spp.* PADA AIR SUNGAI DONOWARIEH YANG TERCEMAR LOGAM TIMBAL

Arina Amalina Nafadiaz, Yoni Rina Bintari, Rio Risandiansyah*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (UNISMA)

ABSTRAK

Pendahuluan: *Pseudomonas spp.* merupakan kelompok bakteri basil gram negatif yang beberapa anggotanya patogen pada manusia dan dapat bersifat *multidrug resistance*. Kontaminasi logam timbal (Pb) dapat menyebabkan seleksi bakteri yang resisten antibiotik. Penelitian dilakukan di sungai Donowarih karena adanya dugaan sungai tercemar dan belum dilakukannya penelitian di tempat ini sebelumnya.

Metode: Penelitian ini dilakukan secara eksperimental laboratorium. Pengujian logam Pb menggunakan metode uji Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). Perhitungan koloni bakteri menggunakan metode Total Plate Count (TPC). Pengujian sensitivitas antibiotik menggunakan metode *Zone of Inhibition* (ZOI). Hasil dianalisa dengan uji *T-test* untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antara dua variabel ($p < 0,05$).

Hasil: Uji SSA menunjukkan pada air sungai Donowarih (T1) dan air PDAM Donowarih (T2) memiliki kadar logam Pb sebesar $0,5668 \pm 15,38$ dan $0,5645 \pm 10,52$. Pada perhitungan TPC bakteri *Pseudomonas spp.* menunjukkan Log TPC T1 dan T2 sebesar $4,61 \pm 3,71^a$ dan $2,18 \pm 4,00^b$. Hasil uji sensitivitas antibiotik menunjukkan nilai rata-rata antibiotik Gentamicin pada T1 dan T2 sebesar $8,28 \pm 0,028^a$ dan $8,88 \pm 0,028^b$. Sedangkan nilai rata-rata antibiotik Ceftazidim pada T1 dan T2 sebesar $12,85 \pm 0,028^c$ dan $13,43 \pm 0,071^d$.

Kesimpulan: Di sungai Donowarih terdapat cemaran timbal (Pb) dan bakteri *Pseudomonas spp.* Selain itu, juga terdapat resistensi *Pseudomonas spp.* terhadap Gentamicin dan Ceftazidim.

Kata Kunci: *Pseudomonas spp.*, Gentamicin, Ceftazidim, TPC

*Korespondensi:

Rio Risandiansyah

Jl. MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

email : riorisandiansyah@unisma.ac.id

ISOLATION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY TESTS OF *Pseudomonas spp.* IN LEAD CONTAMINATED DONOWARIEH RIVER WATER

Arina Amalina Nafadiaz, Yoni Rina Bintari, Rio Risandiansyah*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (UNISMA)

ABSTRACT

Background : *Pseudomonas spp.* is a group of gram-negative bacilli whose members are pathogenic to humans and can be multidrug resistant. Lead (Pb) metal contamination can cause selection of bacteria that are resistant to antibiotics. The research was carried out on the Donowarih river because there was an allegation that the river was polluted and no research had been conducted at this location before.

Method : This research was conducted in an experimental laboratory. Testing for Pb metal uses the Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS) test method. Calculation of bacterial colonies using the Total Plate Count (TPC) method. Testing the sensitivity of antibiotics using the Zone of Inhibition (ZOI) method. The results were analyzed using the T-test to determine the significant differences between the two variables ($p < 0.05$).

Result : The SSA test showed that Donowarih river water (T1) and Donowarih PDAM water (T2) had Pb levels of 0.5668 ± 15.38 and 0.5645 ± 10.52 . In calculating the TPC of *Pseudomonas spp.* shows TPC T1 and T2 logs of 4.61 ± 3.71^a and 2.18 ± 4.00^b . The results of the antibiotic sensitivity test showed that the average values for Gentamicin antibiotics at T1 and T2 were 8.28 ± 0.028^a and 8.88 ± 0.028^b . Meanwhile, the average values of Ceftazidim antibiotics at T1 and T2 were 12.85 ± 0.028^c and 13.43 ± 0.071^d .

Conclusion : In the Donowarih river there are lead (Pb) contamination and *Pseudomonas spp.* In addition, there is also resistance to *Pseudomonas spp.* to Gentamicin and Ceftazidim.

Keywords: *Pseudomonas spp.*, Gentamicin, Ceftazidime, TPC

*Correspondence:

Rio Risandiansyah

Jl. MT. Haryono 193 Malang, East Java, Indonesia, 65144

e-mail : : riorisandiansyah@unisma.ac.id phone: (0341) 558959

PENDAHULUAN

Meningkatnya aktivitas antropogenik dan akselerasi di bidang industri dan pertanian, memicu peningkatan pencemaran air sungai oleh logam berat.¹ Salah satu logam berat yang banyak ditemukan diperairan sebagai pencemar adalah logam timbal (Pb).² Kontaminasi air sungai oleh logam Pb terjadi melalui limpasan curah hujan dari limbah pertanian dan limbah industri, bercampur dengan limbah domestik yang dibuang langsung ke sungai.^{3,1} Cemar Pb dapat menyebabkan gangguan mikroflora seperti bakteri, resisten terhadap logam tersebut.⁴ Salah satu bakteri yang dapat ditemukan di air, dan terpapar logam berat timbal adalah *Pseudomonas spp.*⁵

Pseudomonas spp. merupakan bakteri gram negatif yang tersebar luas di lingkungan, dapat hidup dan berkoloni di air, tanah, dan tumbuhan.⁵ Air sungai memainkan peran penting dalam penyebaran bakteri ini kedalam tubuh manusia melalui rantai makanan maupun kontak secara langsung dengan air sungai.^{3,6,7} Beberapa anggota dari *Pseudomonas spp.* dapat menyebabkan infeksi pada manusia. Salah satunya adalah *Pseudomonas aeruginosa*. *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan penyakit seperti otitis media eksterna,⁸ konjungtivitis,⁹ infeksi saluran kemih (ISK),¹⁰ dan bakteremia.¹¹ *Pseudomonas aeruginosa* merupakan kelompok bakteri “ESKAPE”, yang memiliki kemampuan resisten terhadap beberapa jenis antibiotik.¹²

Resistensi antibiotik menjadi ancaman dalam dunia kesehatan yang menyebabkan peningkatan morbiditas dan mortalitas dalam dekade terakhir dan masa yang akan datang.¹³ Sebuah laporan dari organisasi kesehatan dunia (WHO) memperkirakan bahwa di tahun 2050 resistensi antibiotik akan menjadi penyebab kematian yang paling umum, di mana infeksi ringan dapat membunuh.¹⁴

Kontaminasi logam Pb diketahui dapat menyebabkan seleksi bakteri yang resisten antibiotik.⁴ Hal ini disebabkan adaptasi bakteri melalui proses mutasi dengan memodifikasi target, pengeluaran senyawa dengan pompa efluks, menurunkan permeabilitas membran bakteri dan memproduksi enzim.^{12,15} Resistensi dapat berkembang luas melalui mekanisme transfer gen horizontal yang melibatkan transformasi, transduksi dan konjugasi.^{16,17} Namun, penelitian yang mengkaitkan hal tersebut di Indonesia belum banyak dilakukan.

Pada penelitian ini dilakukan di sungai Donowarih karena adanya dugaan sungai Donowarih tercemar dan belum dilakukannya penelitian di tempat ini sebelumnya. Sungai Donowarih merupakan sungai yang terletak di Desa Donowarih Kabupaten Malang. Sungai Donowarih diduga mengalami pencemaran bakteri *Pseudomonas spp.* yang berasal dari limbah domestik dari TPA yang dekat dengan sungai, limbah pertanian (pupuk organik), dan tinja manusia dan hewan ternak,¹⁸ sehingga tidak layak untuk

dipakai Mandi, Cuci dan Kaskus (MCK), irigasi sawah dan kebun, dan memberi minum hewan ternak.¹⁹ Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui cemaran timbal (Pb) dan bakteri *Pseudomonas spp.* pada air sungai Donowarih, serta resistensi *Pseudomonas spp.* terhadap antibiotik *Gentamicin* dan *Ceftazidim*. Antibiotik *Gentamicin* dan *Ceftazidim* merupakan antibiotik lini pertama dan obat pilihan dalam terapi bakteri *Pseudomonas spp.*²⁰ Sampel dalam penelitian ini diambil dari air sungai Donowarih yang terkontaminasi berbagai limbah. Diharapkan penelitian ini menjadi masukan bagi instansi setempat dalam mengolah limbah dan kebijakan mengenai penggunaan air sungai yang terkontaminasi, mengingat peran penting sungai bagi masyarakat setempat dan mencegah resistensi multi-antibiotik.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan April sampai Juni 2023 di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran Universitas Islam Malang. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium *in vitro* menggunakan bakteri *Pseudomonas spp.* yang diisolasi dari air sungai yang tercemar logam timbal yang dikonfirmasi melalui uji Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) di Laboratorium Pusat Riset Universitas Islam Malang. Antibiotik *Gentamicin* 10 µg dan *Ceftazidim* 30 µg yang digunakan berupa cakram diproduksi oleh Oxoid Ltd, Basingstoke, Inggris Raya.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel menggunakan metode *purposive sampling*. Sampel air yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari 2 lokasi berbeda. Lokasi T1 dari air sungai Donowarih, dan lokasi T2 dari air PDAM di area pemukiman masyarakat Donowarih Kecamatan Karangploso Kabupaten Malang. Sampel air sebanyak 500 ml diambil secara aseptis dan disimpan dalam botol steril.²¹ Pengambilan sampel dilakukan tiga kali dengan selisih waktu satu bulan. Selanjutnya sampel dilakukan uji Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) untuk mendeteksi adanya kontaminasi logam timbal (Pb). Pada uji SSA dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

Perhitungan Total Plate Count (TPC) Bakteri *Pseudomonas spp.*

Pembuatan media uji menggunakan *Chromagar* dengan cara mensuspensikan 31 gram bubuk *Chromagar* dalam 1000 ml aquades. Panaskan pada suhu 100°C selama 5 menit menggunakan autoklaf. Dinginkan pada suhu 50°C. Lalu tuang media cair secara merata ke dalam cawan petri dan dibiarkan mengeras.²²

Selanjutnya dilakukan serial dilusi dengan mengencerkan sampel air 10 ml dalam 90 ml NaCl 0,9% sampai diperoleh pengenceran 10^{-2} . Inokulasikan 1 ml pada media Chromagar dengan metode *spread plate* dan inkubasi dengan cawan terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil isolasi menunjukkan adanya bakteri *Pseudomonas spp.* jika terdapat pigmen berwarna putih.²² Jumlah koloni yang diperoleh dihitung menggunakan metode Total Plate Count (TPC).

Perhitungan Sampel Menggunakan Rumus Slovin

Teknik perhitungan sampel pada penelitian ini menggunakan rumus Slovin. Rumus Slovin memungkinkan seorang peneliti untuk mengambil sampel populasi dengan tingkat akurasi yang diinginkan.²³ Dari rumus slovin tersebut diperoleh hasil 23 koloni bakteri dari T1 dan 21 koloni bakteri dari T2. Sehingga ukuran sampel yang akan diambil untuk dilakukan uji sensitivitas antibiotik sebanyak 44 koloni bakteri.

Preparasi Isolat Bakteri Untuk Uji Sensitivitas Antibiotik

Pembuatan media MHB dengan cara melarutkan 0,42 gram bubuk MHB dalam 20 ml aquades. Panaskan pada suhu 100°C selama 5 menit menggunakan autoklaf. Dinginkan pada suhu 50°C. Lalu tuang media cair secara merata ke dalam *well plate steril*. Tumbuhkan bakteri pada media MHB untuk mendapatkan biomassa bakteri selama 24 jam pada suhu 37°C. Perubahan warna menjadi kehijauan menandakan adanya bakteri *Pseudomonas spp.* di dalamnya.²⁴

Konfirmasi isolat bakteri *Pseudomonas spp.* dilakukan dengan penanaman pada media *MacConkey*. Pembuatan media *MacConkey* dengan melarutkan 12,5 gram bubuk *MacConkey* dalam 250 ml aquades. Panaskan pada suhu 100°C selama 5 menit menggunakan autoklaf. Dinginkan pada suhu 50°C. Lalu tuang media cair secara merata ke dalam cawan petri dan dibiarkan mengeras. Inokulasikan bakteri pada media *MacConkey* pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pertumbuhan bakteri *Pseudomonas spp.* menunjukkan adanya koloni berwarna putih.²⁵

Uji Sensitivitas Antibiotik

Pembuatan media MHA dilakukan dengan melarutkan 21 gram bubuk MHB dan 25 gram *agar powder* dalam 1000 ml aquades. Panaskan pada suhu 100°C selama 5 menit menggunakan autoklaf. Dinginkan pada suhu 50°C. Lalu tuang media cair secara merata ke dalam cawan petri dan dibiarkan mengeras.²⁶

Bakteri dari *MacConkey* dimasukkan kedalam microtube berisi 1 ml NS. Kemudian disetarakan kekeruhannya dengan Standart *McFarland* 0,5 setara dengan $1,5 \times 10^8$ cfu/ml.²⁷

Inokulasikan bakteri pada media MHA dengan kapas lidi dan letakkan *disk antibiotik Gentamicin* dan *Ceftazidim*. Inkubasi pada suhu ruang selama 24 jam pada suhu 37 °C dan amati zona hambat yang terbentuk. Pengukuran zona hambat (ZOI) menggunakan jangka sorong dengan ketelitian mm. Untuk memastikan, pengujian diulangi untuk setiap koloni bakteri dalam dua kali pengulangan.²⁸

Analisa Data Statistik

Data terdistribusi normal dan homogen, selanjutnya dilakukan uji *t-Test* untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antara dua variabel.²⁹ Penghitungan rata-rata dan standar deviasi menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS).

HASIL PENELITIAN

Hasil Uji Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)

Uji SSA dilakukan sebagai screening awal yang digunakan untuk mengetahui adanya kontaminasi logam timbal (Pb) pada air sungai Donowarih. Hasil uji SSA dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1: Hasil Uji Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)

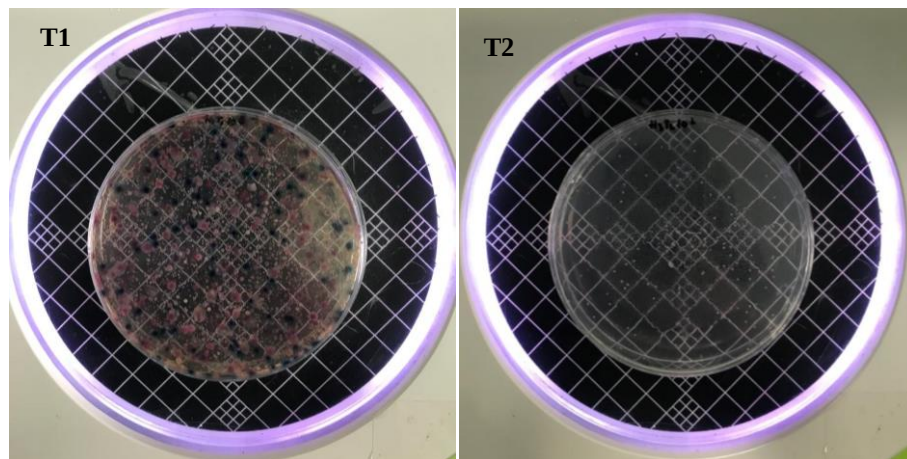
Lokasi	Rata-rata ± Standar Deviasi
T1	0,5668 ± 15,38
T2	0,5645 ± 10,52

Keterangan: Hasil Uji SSA dari T1 (air sungai Donowarih) dan T2 (air PDAM Donowarih). Keduanya terdapat peningkatan logam timbal (Pb). Normal Timbal dalam perairan < 0,1 ppm.

Berdasarkan PP No. 20 tahun 1990 nilai baku mutu Pb dalam perairan adalah < 0,1 ppm.³⁰ Pada **Tabel 1** menunjukkan bahwa pada kedua lokasi baik air sungai Donowarih maupun air PDAM Donowarih terjadi kontaminasi logam timbal (Pb).

Hasil Perhitungan Total Plate Count (TPC) Bakteri *Pseudomonas spp.*

Isolasi bakteri *Pseudomonas spp.* pada penelitian ini menggunakan media selektif berupa media *Chromagar*. Pada media *Chromagar* bakteri *Pseudomonas spp.* akan menunjukkan koloni bakteri berwarna putih.²² Perhitungan koloni bakteri menggunakan metode Total Plate Count (TPC) dengan satuan cfu/ml. Hasil perhitungan Total Plate Count (TPC) bakteri *Pseudomonas spp.* dapat dilihat pada **Gambar 2 dan Tabel 3**.



Gambar 2 : Hasil perhitungan TPC bakteri *Pseudomonas spp.* pada T1 (air sungai Donowarih) dan T2 (air PDAM Donowarih)

Tabel 3: Hasil Perhitungan TPC Bakteri *Pseudomonas spp.*

Lokasi	Rata-rata (CFU/mL)	Log TPC $\pm$ Standar Deviasi (CFU/mL)
T1	$4,1 \cdot 10^4$	$4,61 \pm 3,71^a$
T2	$1,52 \cdot 10^2$	$2,18 \pm 4,00^b$

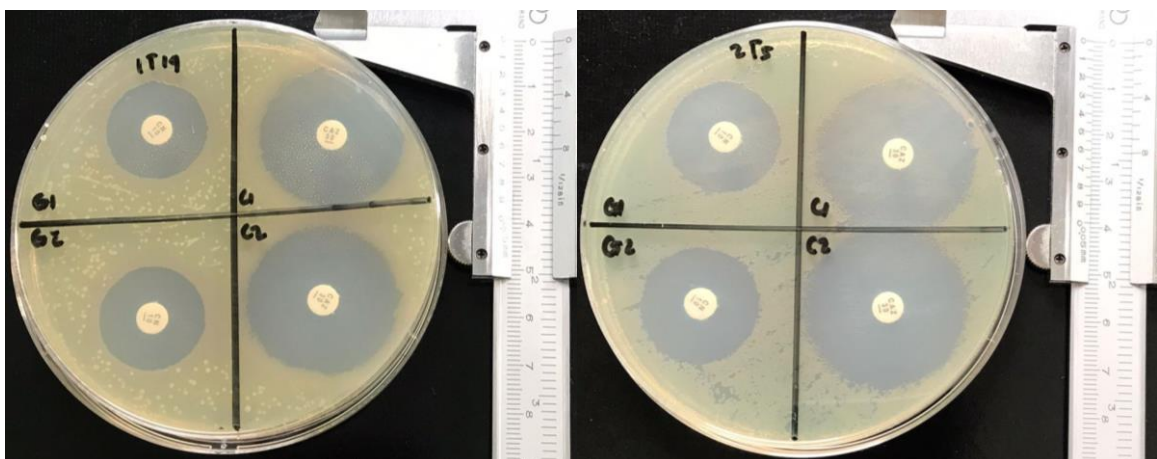
Keterangan: Hasil perhitungan TPC bakteri *Pseudomonas spp.* pada T1 (air sungai Donowarih) dan T2 (air PDAM Donowarih). Data telah diuji dengan uji t-test. Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Pada Gambar 2 dan Tabel 3 menunjukkan Log TPC T1 sebesar $4,61 \pm 3,71^a$ dan Log TPC T2 sebesar $2,18 \pm 4,00^b$. Dengan demikian terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok T1 dan T2, dimana jumlah bakteri *Pseudomonas spp.* T1 lebih banyak dibandingkan T2.

Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik

Uji sensitivitas antibiotik dilakukan dengan metode *Zone of inhibition* (ZOI). ZOI dapat digunakan untuk menentukan apakah bakteri sensitif, intermediet, atau resisten terhadap antibiotik yang digunakan dengan mengukur zona bening. Pengukuran zona bening menggunakan jangka sorong dengan satuan mm.²⁸

Intrepretasi hasil pada *Gentamicin* apabila diameter hambatnya ≤ 12 mm maka dikatakan resisten, intermediet apabila diameter hambat $13-14^{\wedge}$ mm, dan sensitif apabila diameter hambat ≥ 15 mm. Sedangkan pada *Ceftazidim* apabila diameter hambatnya ≤ 14 mm maka dikatakan resisten, intermediet apabila diameter hambat $15-17^{\wedge}$ mm, dan sensitif apabila diameter hambatnya ≥ 18 mm.²⁰ Pada penelitian ini didapatkan jumlah isolat bakteri *Pseudomonas spp.* yang resisten terhadap antibiotik *Gentamicin* dan *Ceftazidim* sebesar 100%. Hasil uji sensitivitas antibiotik dapat dilihat pada Gambar 4 dan Table 5.



Gambar 4 : Hasil uji sensitivitas antibiotik isolat bakteri *Pseudomonas spp.* pada T1 (air sungai Donowarih) dan T2 (air PDAM Donowarih) terhadap antibiotik Gentamicin dan Ceftazidim.

Tabel 5: Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik

Antibiotik	Lokasi	Rata-rata $\pm$ Standar Deviasi
Gentamicin	T1	8,28 $\pm$ 0,028a
	T2	8,88 $\pm$ 0,028b
Ceftazidim	T1	12,85 $\pm$ 0,028c
	T2	13,43 $\pm$ 0,071d

Keterangan: Hasil Uji sensitivitas antibiotik pada 25 sampel bakteri *Pseudomonas spp.* dari T1 (air sungai Donowarih) dan 23 sampel dari T2 (air PDAM Donowarih) terhadap *Gentamicin* dan *Ceftazidim*. Data telah diuji dengan uji t-test. Notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$). Uji t-test yang dilakukan adalah antara T1 dan T2 pada antibiotik yang sama.

Pada **Gambar 4** dan **Table 5** menunjukkan antibiotik *Gentamicin* pada T1 memiliki nilai rata-rata sebesar 8,28 $\pm$ 0,028^a dan T2 memiliki nilai rata-rata sebesar 8,88 $\pm$ 0,028^b. Dengan demikian terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok T1 dan T2, dimana bakteri *Pseudomonas spp.* pada T1 lebih resisten antibiotik *Gentamicin* dibandingkan T2. Sedangkan antibiotik *Ceftazidim* pada T1 memiliki nilai rata-rata sebesar 12,85 $\pm$ 0,028^c dan T2 memiliki nilai rata-rata sebesar 13,43 $\pm$ 0,071^d. Dengan demikian terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok T1 dan T2, dimana bakteri *Pseudomonas spp.* pada T1 lebih resisten antibiotik *Ceftazidim* dibandingkan T2.

PEMBAHASAN

Hasil Uji Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)

Logam timbal merupakan logam toksik yang sulit terdegradasi dan terakumulasi di lingkungan. Toksisitas timbal dapat menyebabkan gangguan sistem neurologis, pernafasan, perkemihan, kardiovaskular, reproduksi, dan kognitif.^{31,32}

Hasil penelitian menunjukkan adanya kontaminasi logam timbal (Pb) baik di sungai Donowarih (T1) maupun air PDAM Donowarih (T2). Didapatkan nilai Pb sebesar 0,5668 ppm pada T1 dan 0,5645 ppm pada T2. Kandungan logam timbal pada keduanya sudah di atas ambang batas yang diperbolehkan oleh PP No. 20 tahun 1990 yaitu sebesar 0,1 ppm.³⁰ Sehingga bisa dikatakan air sungai Donowarih tidak layak untuk dipakai Mandi, Cuci dan Kaskus (MCK), irigasi sawah dan kebun, dan memberi minum hewan ternak, juga tidak layak di konsumsi air PDAMnya.¹⁹

Beberapa penelitian dilakukan mengenai analisis kadar logam timbal pada perairan sungai di Malang. Penelitian yang dilakukan Cahyani (2017) menunjukkan bahwa pada perairan sungai Lesti kabupaten Malang mengandung logam berat timbal 0,041-0,104 ppm. Penelitian yang sama juga dilakukan oleh Kareliasari di tahun 2021 menunjukkan hasil logam berat timbal tinggi di perairan sungai Lesti dikisaran 0,061 - 0,801 ppm. Penelitian lainnya oleh Widyastuti (2017) yang dilakukan di sungai Bades kecamatan Sukun kota

Malang juga tercemar logam berat timbal 0,173 - 0,213 ppm.

Tingginya konsentrasi timbal pada air sungai Donowarih disebabkan karena adanya cemaran limbah domestik yang dibuang langsung ke sungai (berupa sampah plastik, styrofoam, kertas koran, kaleng, baterai, kosmetik, dan lainnya), limbah pertanian (berupa insektisida, pupuk urea dan pupuk nitro ponska yang mengandung timbal), dan limbah industri (berupa cat pelitur dari pabrik meubel yang dekat dengan sungai).³ Sedangkan tingginya konsentrasi timbal air PDAM berasal dari pemakaian pipa penyalur yang belum bebas timbal.³³

Hasil Perhitungan Total Plate Count (TPC) Bakteri *Pseudomonas spp.*

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 32 Tahun 2017 menyatakan total coliform di perairan sebanyak 10^4 cfu/ml.³⁴ Pada penelitian yang telah dilakukan didapatkan nilai rata-rata bakteri *Pseudomonas spp.* sebesar $4,1 \cdot 10^4$ cfu/ml pada T1 dan $1,52 \cdot 10^2$ cfu/ml pada T2. Berdasarkan hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya kontaminasi bakteri *Pseudomonas spp.* pada air sungai Donowarih (T1), sedangkan pada air PDAM Donowarih (T2) jumlah bakteri *Pseudomonas spp.* masih di bawah ambang batas.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nur'aini, dkk. (2020) mengenai analisis kelimpahan bakteri *Pseudomonas spp.* di perairan desa Bejalen Rawa Pening Jawa Tengah terdeteksi adanya pencemaran bakteri *Pseudomonas spp.* di sungai Panjang sebesar $1,2 \times 10^4$ hingga $4,2 \times 10^4$ cfu/ml.

Tingginya konsentrasi bakteri *Pseudomonas spp.* pada air sungai Donowarih disebabkan karena adanya cemaran limbah domestik dari TPA yang dekat dengan sungai, limbah pertanian (pupuk organik), tinja manusia dan hewan ternak.¹⁸ Salah satu anggota bakteri *Pseudomonas spp.*, yang patogen adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penyebaran *P. aeruginosa* kedalam tubuh manusia terjadi melalui rantai makanan maupun kontak secara langsung dengan air sungai^{3,6,7} menyebabkan penyakit seperti otitis media eksterna,⁸ konjungtivitis,⁹ infeksi saluran kemih (ISK),¹⁰ dan bakteremia.¹¹

Limbah pertanian yang mengandung logam Pb dan kalium tinggi dapat menseleksi bakteri *Pseudomonas spp.* yang tahan terhadap logam tersebut. Beberapa spesies dari *Pseudomonas spp.* diketahui memiliki mekanisme pertahanan terhadap Pb. Salah satu anggota *Pseudomonas* yang non-patogen seperti *P. putida* memiliki mekanisme pertahanan terhadap Pb sama dengan mekanisme pengikatan kalium.^{35,36}

Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik

Interpretasi hasil uji sensitivitas pada antibiotik *Gentamicin* apabila diameter hambatnya ≤ 12 mm maka dikatakan resisten, intermediet apabila diameter hambat 13-14 mm, dan sensitif apabila diameter hambat ≥ 15 mm. Sedangkan pada

antibiotik *Ceftazidim* apabila diameter hambatnya ≤ 14 mm maka dikatakan resisten, intermediet apabila diameter hambat 15-17 mm, dan sensitif apabila diameter hambatnya ≥ 18 mm.²⁰ Pada hasil penelitian yang telah dilakukan uji sensitivitas antibiotik pada 23 sampel bakteri *Pseudomonas spp.* dari T1 (air sungai Donowarih) dan 21 sampel dari T2 (air PDAM Donowarih) resisten terhadap *Gentamicin* sebesar $8,28 \pm 0,028^a$ dan $8,88 \pm 0,028^b$. Sedangkan uji sensitivitas antibiotik pada 23 sampel bakteri *Pseudomonas spp.* dari T1 (air sungai Donowarih) dan 21 sampel dari T2 (air PDAM Donowarih) resisten terhadap *Ceftazidim* sebesar $12,85 \pm 0,028^c$ dan $13,43 \pm 0,071^d$. Berdasarkan hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya resistensi pada air sungai Donowarih (T1) dan air PDAM Donowarih terhadap antibiotik *Gentamicin* dan *Ceftazidim*.

Kontaminasi logam Pb diketahui dapat menyebabkan seleksi bakteri yang resisten logam berat dan dapat disertai dengan resistensi silang terhadap multi-antibiotik. Hal ini disebabkan adaptasi bakteri melalui proses mutasi dengan memodifikasi target, pengeluaran senyawa dengan pompa efluks, menurunkan permeabilitas membran bakteri dan memproduksi enzim.^{12,15} Resistensi dapat berkembang luas melalui mekanisme transfer gen horizontal yang melibatkan transformasi, transduksi dan konjugasi. Transformasi merupakan pemindahan materi genetik secara langsung melalui DNA ekstraseluler. Konjugasi merupakan pemindahan materi genetik secara kontak langsung, melewati jembatan konjugasi. Transduksi merupakan pemindahan materi genetik melalui vektor virus (bakteriofag).^{16,17}

Selain resistensi diatas, resistensi intrinsik dapat muncul pada bakteri *Pseudomonas spp.*, sehingga resisten terhadap multi-antibiotik secara alami tanpa melalui proses mutasi pada bakteri akibat paparan logam timbal.³⁷

KESIMPULAN

Beberapa kesimpulan dari penelitian yang telah dilakukan diantaranya :

1. Terdapat pencemaran logam timbal baik di air sungai maupun air PDAM Donowarih.
2. Terdapat pencemaran bakteri *Pseudomonas spp.* pada air sungai Donowarih, sedangkan cemaran bakteri *Pseudomonas spp.* pada air PDAM Donowarih masih dalam batas normal.
3. Terdapat resistensi bakteri *Pseudomonas spp.* terhadap antibiotik *Gentamicin* dan *Ceftazidim* baik di air sungai Donowarih maupun air PDAM Donowarih.

SARAN

Saran untuk pengembangan dan

perbaikan penelitian ini diperlukan penelitian lanjutan dengan

1. Melakukan uji korelasi antara peningkatan

Pb dengan resistensi antibiotoik untuk melihat korelasi adanya peningkatan kadar timbal dengan resistensi multi-antibiotik.

2. Melakukan uji Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk melihat ada tidaknya gen resisten pada bakteri *Pseudomonas spp.* terhadap antibiotik *Gentamicin* dan *Ceftazidim*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Niveshika, Savita Singh, Ekta Verma & Arun Kumar Mishra. Isolation, characterization and molecular phylogeny of multiple metal tolerant and antibiotics resistant bacterial isolates from river Ganga, Varanasi, India. **Cogent Environmental Science**. 2016;2:(1).
2. Putra Muhammad D.N., Sugeng Widada, dan Warsito Atmodjo. Studi Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) Pada Sedimen Dasar Perairan Banjir Kanal Timur Semarang. **Indonesia Journal of Oceanography (IJOCE)**. 2022;04(03):13-21.
3. Kittinger, C., Lipp, M., Folli, B., Kirschner, A., Baumert, R., Galler, H., Grisold, A. J., Luxner, J., Weissenbacher, M., Farnleitner, A. H., & Zarfel, G. Enterobacteriaceae Isolated from the River Danube: Antibiotic Resistances, with a Focus on the Presence of ESBL and Carbapenemases. **PLoS one**. 2016;11(11),e0165820.
4. Edet, U. O., Bassey, I. U., & Joseph, A. P. Heavy metal co-resistance with antibiotics amongst bacteria isolates from an open dumpsite soil. **Heligon**. 2023;9(2), e13457.
5. Berger, C., Rückert, C., Blom, J., Rabaey, K., Kalinowski, J., & Rosenbaum, M. A. Estimation of pathogenic potential of an environmental *Pseudomonas aeruginosa* isolate using comparative genomics. **Scientific reports**. 2021;11(1): 1370.
6. Antunes P, Novais C, Peixe L. Food-to-Humans Bacterial Transmission. **Microbiol Spectr**. 2020; 8(1) : 10.1128.
7. Van Seventer, J. M., & Hochberg, N. S. Principles of Infectious Diseases: Transmission, Diagnosis, Prevention, and Control. **International Encyclopedia of Public Health**. 2017; 22–39.
8. Sahu, M. C., Swain, S. K., & Kar, S. K. Genetically Diversity of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Chronic Suppurative Otitis Media with Respect to

- Their Antibiotic Sensitivity Pattern. **Indian journal of otolaryngology and head and neck surgery**. 2019; 71(Suppl 2) : 1300–1308.
9. Eguchi, H., Miyamoto, T., Kuwahara, T., Mitamura, S., & Mitamura, Y. Infectious conjunctivitis caused by *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a bathroom. **BMC research notes**. 2013; 6 : 245.
 10. Newman, J. N., Floyd, R. V., & Fothergill, J. L. Invasion and diversity in *Pseudomonas aeruginosa* urinary tract infections. **Journal of medical microbiology**. 2022; 71(3) : 001458.
 11. Babich, T., Naucler, P., Valik, J. K., Giske, C. G., Benito, N., Cardona, R., Rivera, A., Pulcini, C., Fattah, M. A., Haquin, J., Macgowan, A., Grier, S., Chazan, B., Yanovskay, A., Ami, R. B., Landes, M., Neshet, L., Zaidman-Shimshovitz, A., McCarthy, K., Paterson, D. L., ... Yahav, D. Duration of Treatment for *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia: a Retrospective Study. **Original Research : Infectious diseases and therapy**. 2022; 11(4):1505–1519.
 12. Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., & Biondo, C. Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. **Pathogens (Basel, Switzerland)**. 2021; 10(10):1310.
 13. Gajic, I., Kabic, J., Kekic, D., Jovicevic, M., Milenkovic, M., Mitic Culafic, D., Trudic, A., Ranin, L., & Opavski, N. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Currently Used Methods. **Antibiotics**. 2022;11(4):427.
 14. Khan, Z. A., Siddiqui, M. F., & Park, S. Current and Emerging Methods of Antibiotics Susceptibility Testing. **Diagnostics (Basel, Switzerland)**. 2019; 9(2):49.
 15. Wales, A. D., & Davies, R. H. Co-Selection of Resistance to Antibiotics, Biocides and Heavy Metals, and Its Relevance to Foodborne Pathogens. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**. 2015;4(4):567–604.
 16. Sun D. Pull in and Push Out: Mechanisms of Horizontal Gene Transfer in Bacteria. **Frontiers in microbiology**. 2018;9:2154.
 17. Hall RJ, Whelan FJ, McInerney JO, Ou Y, Domingo-Sananes MR. Horizontal Gene Transfer as a Source of Conflict and Cooperation in Prokaryotes. **Front Microbiol**. 2020;11:1569.
 18. Hanuf., Atiqah Aulia. Kemampuan Lahan sebagai Dasar Penggunaan Lahan Optimal di Desa Donowarih, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang (**skripsi**). Malang : Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya ; 2017.
 19. Bhumbra, U., Majumdar, S., Jain, S., & Dalal, A. S. A study of isolation and identification of bacteria from lake water in and around Udaipur, Rajasthan. **Journal of family medicine and primary care**. 2020;9(2):751–754.
 20. Turner Paul. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 32nd edition CLSI : **Clinical and Laboratory Standards Institute**; 2022.
 21. Kusuma, S. A. F., Rostinawati, T., Hendriani, R., Budiman, M. F., & Parwati, I. Effect of water reservoirs types on the prevalence and antibiotic resistance profiles of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from bathroom water in hospitals. **Journal of advanced pharmaceutical technology & research**. 2021;12(1):52–56.
 22. Rambach, A. The Widest Range of Chromogenic Media For Colourful Microbial Detection. **Pioneer in Chromogenic media**; 1979.
 23. Abimana, J. B., Kato, C. D., & Bazira, J. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization among Healthcare Workers at Kampala International University Teaching Hospital, Southwestern Uganda. **The Canadian journal of infectious diseases & medical microbiology**. 2019; 4157869.
 24. Behzadi, P., Baráth, Z., & Gajdács, M. It's Not Easy Being Green: A Narrative Review on the Microbiology, Virulence and Therapeutic Prospects of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**. 2021; 10(1):42.
 25. Truong, T. V., Twist, A., Zaytsev, A., Marrs, E. C. L., Perry, A., Turnbull, G., Orega, S., Stanforth, S. P., & Perry, J. D. Evaluation of a Novel Chromogenic Medium for the Detection of *Pseudomonas aeruginosa* in Respiratory Samples from Patients with Cystic Fibrosis. **Microorganisms**. 2022; 10(5):1004.
 26. Nassar, M. S. M., Hazzah, W. A., & Bakr, W. M. K. Evaluation of antibiotic susceptibility test results: how guilty a laboratory could be. **The Journal of the Egyptian Public Health Association**. 2019;94(1):4
 27. Díez-Aguilar, M., Martínez-García, L., Cantón, R., & Morosini, M. I. Is a New Standard Needed for Diffusion Methods for In Vitro Susceptibility Testing of Fosfomycin against *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**. 2015;60(2):1158–1161.
 28. Koohsari, H., Ghaemi, E. A., Sadegh Sheshpoli, M., Jahedi, M., & Zahir, M. The investigation of antibacterial activity of selected native plants from North of Iran. **Journal of medicine and life**. 2015;8(Spec Iss 2):38–42.

29. Wadhwa RR, Marappa-Ganeshan R. T Test. **Treasure Island (FL): StatPearls Publishing**; 2023.
30. Indarti, Dwi *et. al.* Pemisahan Pb (II) Menggunakan Supported Liquid Membrane (SLM) dengan Variasi Jumlah Senyawa Pembawa dan Konsentrasi Larutan Umpan. **Jurnal Ilmu Dasar**. 2017;18(2):139-144.
31. Balali-Mood M, Naseri K, Tahergorabi Z, Khazdair MR, Sadeghi M. Toxic Mechanisms of Five Heavy Metals: Mercury, Lead, Chromium, Cadmium, and Arsenic. **Front Pharmacol**. 2021; 2:64397.
32. Kumar A, Kumar A, M M S CP, *et al.* Lead Toxicity: Health Hazards, Influence on Food Chain, and Sustainable Remediation Approaches. **Int J Environ Res Public Health**. 2020;17(7):2179.
33. Jaishankar M., *et.al.* Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. **Interdisciplinary toxicology**. 2014; 7(2):60–72.
34. Nur'aini E., Widyorini N., dan Jati O.E. Analisis Kelimpahan Bakteri *Pseudomonas* sp. Di Perairan Desa Bejalen Rawa Pening, Jawa Tengah. **Jurnal Pasir Laut**. 2020;4(1):22-27.
35. Reva ON, Weinel C, Weinel M, *et al.* Functional genomics of stress response in *Pseudomonas putida* KT2440. **J Bacteriol**. 2006;188(11):4079-4092.
36. Wolf S, Pflüger-Grau K, Kremling A. Modeling the Interplay of *Pseudomonas putida* EIHA with the Potassium Transporter KdpFABC. **J Mol Microbiol Biotechnol**. 2015;25(2-3):178-194.
37. Poole K. *Pseudomonas aeruginosa* : resistance to the max. **Front Microbiol**. 2011;2:65.

