

PENGUKURAN *Enterobacter sp.* YANG DIISOLASI DARI TANAH TPA MENGUNAKAN MEDIA TERSUPLEMENTASI Pb DAN SENSITIVITAS TERHADAP CEFAZOLIN DAN GENTAMISIN

Fitri Maulidya, Yoni Rina Bintari, Rio Risandiansyah*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Tanah TPA Supit Urang (TSU) memiliki kadar Pb yang tinggi sehingga dapat mempengaruhi mikroflora tanah, salah satunya adalah *Enterobacter sp.* sehingga berpotensi menimbulkan resistensi silang terhadap antibiotik. Namun, hal tersebut belum diteliti dengan baik. Maka, penelitian ini akan melakukan isolasi bakteri *Enterobacter sp.* dari tanah di dalam dan di luar fasilitas TSU menggunakan media yang mengandung Pb untuk menyeleksi bakteri *Enterobacter sp.* dan mengukur sensitivitasnya terhadap Cefazolin dan Gentamisin.

Metode: Sampel tanah diukur kadar Pbnya dengan menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*). Metode Total Plate Count (TPC) digunakan untuk perhitungan bakteri. Pengujian sensitivitas antibiotik dilakukan menggunakan metode Kirby-Bauer untuk menentukan diameter Zona Hambat (ZOI) dan dibandingkan dengan standar CLSI. Uji statistik T-Test dilakukan untuk menemukan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Hasil: Hasil AAS menunjukkan kadar Pb di dalam TSU (T1) sebesar 12,65 mg/kg sedangkan di luar TSU (T2) tidak terdeteksi. Jumlah koloni *Enterobacter sp.* dari T1 dan T2 pada media yang tidak diberi suplemen Pb masing-masing adalah 760 ± 1295^a dan 6100 ± 1317^c CFU/ml, dan pada media yang diberi suplemen Pb adalah 310 ± 141^a dan 2900 ± 1582^b CFU/ml. Uji sensitivitas menunjukkan 16/22 sampel dari T1 dan 21/22 sampel dari T2 resisten terhadap Cefazolin. Dari T1 dan T2, 22/22 sampel sensitif terhadap Gentamisin.

Kesimpulan: Pb ditemukan dari tanah fasilitas TSU dan *Enterobacter sp.* ditemukan dalam jumlah yang lebih tinggi di luar TSU dibandingkan di dalam TSU. Dari kedua lokasi tersebut, *Enterobacter sp.* ditemukan resisten terhadap cefazolin dan sensitif terhadap gentamisin.

Kata Kunci: *Enterobacter sp.*, Cefazolin, Gentamisin, TPC

*Penulis Korespondensi:

Rio Risandiansyah, S.Ked., MP., PhD

JL. MT Haryono 19 Malang, East Java, Indonesia, 65145

e-mail: riorisandiansyah@unisma.ac.id

ENUMERATION OF *ENTEROBACTER SP.* ISOLATED FROM LANDFILL SOIL USING Pb SUPPLEMENTED MEDIUM AND ITS RESISTANCE AGAINST CEFAZOLIN AND GENTAMICIN

Fitri Maulidya, Yoni Rina Bintari, Rio Risandiansyah*
Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: Supit Urang Landfill (SUL) soil has high Pb levels that can affect soil microflora, one of which is *Enterobacter sp.*, potentially leading to cross-resistance against antibiotics. However, this has not been well researched. This study isolated *Enterobacter sp.* from soil inside and outside SUL facility using Pb supplemented media to select Pb tolerant *Enterobacter sp.* and measure its sensitivity against Cefazolin and Gentamicin.

Method: Soil samples were measured for Pb levels using AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*). Total Plate Count (TPC) method was used to enumerate bacteria. Antibiotic sensitivity testing utilizing the Kirby-Bauer method, measuring the diameter of the Zone of Inhibition (ZOI) and comparing it to the CLSI standard. T-test statistical technique to find significant differences ($p < 0.05$).

Results: AAS showed that the Pb levels in inside SUL (T1) was 12,65 mg/kg, whereas none was detected outside SUL (T2). The number of *Enterobacter sp.* colonies at T1 and T2 in non Pb supplemented media was 760 ± 1295^a and 6100 ± 1317^c CFU/ml, respectively, and in Pb supplemented media was 310 ± 141^a and 2900 ± 1582^b CFU/ml. Against cefazolin, 16/22 samples were found to be resistant in T1 and 21/22 in T2. All samples were sensitive against gentamicin.

Conclusion: Pb was found from soil in the SUL facilities, and *Enterobacter sp.* was found in higher number outside SUL compared to inside. From both locations, *Enterobacter sp.* was found to be resistant to cefazolin and sensitive to gentamicin.

Keywords: *Enterobacter sp.*, Cefazolin, Gentamicin, TPC

*Correspondence Author:

Rio Risandiansyah, S.Ked., MP., PhD

JL. MT Haryono 19 Malang, East Java, Indonesia, 65145

e-mail: riorisandiansyah@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Kota Malang mengalami peningkatan produksi atau timbunan sampah tiap tahun, terutama di Tempat Pengolahan Akhir (TPA) Supit Urang.¹ TPA Supit Urang Kota Malang menggunakan teknologi *controlled landfill* yang berpotensi merusak tanah sekitar.² Pada TPA di daerah lain di Jawa kadar Pb dapat berkisar dari 7,17-215,68 mg/kg.²⁷ Penelitian sebelumnya mengatakan bahwa pada tanah TPA Supit Urang mengandung Pb sebanyak 8,82 ppm.³

Konsentrasi kadar Pb yang cukup tinggi berasal dari timbunan sampah seperti sisa kemasan pestisida, cat, aki bekas dan baterai bekas. Pb bersifat bioakumulatif yang tidak mudah terurai, walaupun terurai memerlukan jangka waktu yang lama dan toksisitasnya tidak berubah sehingga dapat merusak ekosistem bakteri tanah (*Soil Microbiome*).^{4,5} Bakteri tanah juga dapat bersinggungan dengan manusia karena berada pada lingkungan hidup manusia, dimana apabila terdapat perubahan pada ekosistem bakteri juga akan mempengaruhi manusia. Pada bidang kesehatan, salah satu pengaruhnya yakni infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme.⁴⁸

Mikroorganisme yang mendapat paparan pencemaran logam berat berulang akan menyebabkan munculnya gen HMG (*Heavy Metal Resistance Genes*). Bakteri yang memunculkan gen HMG akan melakukan seleksi positif pada populasi bakteri, bakteri yang tetap hidup yang mempunyai gen resisten akan tetap hidup dan berkembang di lingkungan tersebut.^{8,43} Plasmid yang membawa gen resisten atau toleransi terhadap logam berat serta membawa gen resisten antibiotik, gen resisten desinfektan atau deposit bahan beracun.⁹ Munculnya gen HMG yang dipicu oleh paparan logam berat akan mempengaruhi seleksi resistansi antibiotik pada bakteri, sehingga bakteri mempunyai gen resisten terhadap antibiotik tertentu.¹⁰ Resistansi yang muncul terhadap antibiotik membuat terapi yang dilakukan mengalami kesulitan serta memerlukan antibiotik yang mutakhir dalam penanganannya.¹¹

Enterobacter sp. merupakan bakteri lingkungan yang banyak dijumpai pada tanah. *Enterobacter sp.* merupakan bakteri Gram negatif yang dapat bersifat patogen dan dapat menyebabkan infeksi pada manusia. Infeksi ini dapat menyerang seluruh sistem pada tubuh manusia, pada infeksi lanjut dapat menyebabkan kematian.^{6,7} Diagnosis yang tepat akan menentukan pemberian antibiotik yang

tepat pula. Pada *guideline Clinical and Laboratory Standart Institute (CLSI)* edisi 32, grup A antibiotik yang direkomendasikan untuk infeksi bakteri *Enterobacter sp.* termasuk cefazolin, gentamisin.²²

Cefazolin dan Gentamisin adalah antibiotik yang sering digunakan untuk bakteri Gram negatif dan Gram positif.¹² Cara kerja Cefazolin adalah dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri, sedangkan untuk antibiotik gentamisin bekerja pada sintesa protein.^{13,31} Pada kerja kedua antibiotik mempunyai banyak faktor yang menentukan keberhasilannya dalam mengeliminasi bakteri. Faktor resistansi yang dimiliki oleh bakteri berperan penting dalam mempertahankan hidup dan penyebaran bakteri pada kondisi tertentu.⁴⁴

Penyebaran resistansi antibiotik diketahui saat ini adalah dari penggunaan antibiotik secara berlebihan. Namun, ekologi lingkungan TPA belum banyak diteliti dalam kaitannya dengan penyebaran resistansi antibiotik. Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti akan melakukan isolasi bakteri *Enterobacter sp.* dari tanah di dalam dan di luar fasilitas TPA Supit Urang Kota Malang menggunakan media yang mengandung logam berat Pb untuk menyeleksi bakteri *Enterobacter sp.* yang resisten terhadap Pb dan dilakukan pengujian ZOI untuk antibiotik Cefazolin, Gentamisin.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan secara *in vitro*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Pusat Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (FK UNISMA) dan Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Brawijaya pada bulan Januari hingga Februari 2023.

Pengambilan Sampel Penelitian

Sampel bakteri *Enterobacter sp.* yang di dapatkan dari sampel tanah di dalam TPA Supit Urang Kota Malang (T1) dan di luar fasilitas TPA Supit Urang Kota Malang (T2) dengan melibatkan penggalian hingga kedalaman sekitar 10-20 cm di tiap lokasi. Tanah diambil menggunakan alat steril dan dimasukkan kedalam wadah steril. Tanah pada wadah steril yang tidak langsung dilakukan perlakuan kemudian disimpan kedalam lemari es pada suhu 4 °C - 8°C untuk menghambat pembusukan dan matinya bakteri yang akan diteliti.¹⁵



Gambar Lokasi Pengambilan Sampel Penelitian

Pemeriksaan Kadar Logam Berat

Pemeriksaan sampel tanah dilakukan menggunakan teknik AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*). Teknik AAS bertujuan untuk mengetahui kadar logam berat. AAS dilakukan dengan dua kali pengulangan di Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.

Pembuatan Media CHROMagar

Persiapan pembuatan media CHROMagar tanpa Pb dan CHROMagar dengan Pb. Pembuatan media CHROMagar dibuat dengan melarutkan bubuk *ChroMed Chromogenic Coliform Agar* (CCA) 31 gr ditambah dengan 1 L aquades, kemudian di *autoclave* pada suhu 121°C agar steril selama 20 menit. Setelah di *autoclave*, media CHROMagar dengan Pb ditambahkan dengan bubuk *Lead (II) Acetate Trihydrate* ($C_4H_6O_4Pb \cdot 3H_2O$) hingga konsentrasi akhir 800 ppm.¹⁶

Uji TPC Bakteri *Enterobacter sp.*

Persiapan angka lempeng total dilakukan dengan cara pengenceran dari kedua sampel tanah yakni dalam dan luar TPA yang ditimbang masing-masing 1 gr kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi normal saline 9 ml kemudian dihomogenkan dengan vortex dan diberi label 10^0 . Dari tabung reaksi 10^0 diambil 1 ml menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke tabung reaksi yang berisi normal saline 9 ml dan dihomogenkan, proses ini dilakukan sampai mendapatkan pengenceran 10^{-2} .¹⁷

Hasil pengenceran diambil 1 ml menggunakan mikropipet, kemudian dimasukkan kedalam cawan petri yang berisikan media CHROMagar dengan Pb dan *distreaking* penuh menggunakan *spreader* steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.¹⁸

Pembuatan Media Penumbuhan Bakteri

Pembuatan media penumbuhan bakteri terdiri dari MacConkey, *Mueller Hinton Broth* (MHB), *Mueller Hinton Agar* (MHA). Pada Media MacConkey dengan menggunakan bubuk MacConkey-Agar yang dilakukan mengikuti instruksi takaran penggunaan oleh produsen dengan melarutkan bubuk sebanyak 50 gr dengan 1 L aquadest. Pada media MHB dengan menggunakan bubuk MHB untuk prosedurnya sesuai instruksi sebanyak 21 gr dilarutkan dalam 1 L aquadest. Kemudian pembuatan media MHA juga dilakukan sesuai instruksi takaran oleh produsen dengan melarutkan campuran bubuk MHB yang ditambah agar bacterial sebanyak 15 gr dan dimasukkan ke dalam 1 L aquadest. Tahap akhir akan di *autoclave* selama 20 menit pada suhu 121°C.¹⁹

Subkultur Bakteri Pada Media MacConkey dan Media MHB

Pada proses ini dilakukan dengan menggunakan bakteri yang tumbuh pada media CHROMagar yang telah ditambahkan Pb dengan cara mengambil 1 koloni menggunakan oshe kolong steril kemudian *distreaking* 4 kuadran ke dalam media MacConkey dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada subkultur media MHB dilakukan dengan cara memasukkan 1 koloni bakteri dari media CHROMagar yang telah ditambahkan Pb kedalam media MHB menggunakan oshe kolong steril. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.¹⁹

Uji Sensitivitas Antibakteri

Uji sensitivitas antibakteri ini menggunakan metode difusi cakram (Kirby Bauer) Metode ini dilakukan dengan menggunakan disk cakram antibiotik Cefazolin dan Gentamisin yang telah distandarkan dengan 0,5 Mc. *Farland* dengan komposisi campuran larutan H_2SO_4 1% 9,95 ml dan larutan BaCl 1% 0,05 ml sehingga didapatkan bakteri sebanyak $1,5 \times 10^8$ CFU/mL serta dilakukan *streaking* menggunakan *cotton swab* pada media MHA. Kemudian menempelkan disk antibiotik Cefazolin dan Gentamisin menggunakan pinset serta dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian dihitung zona hambatnya.²⁰

Pengambilan Data Zona Hambat (*Zone of Inhibition*)

Pengambilan data sensitivitas antibiotik

dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat (ZOI) dari cakram yang telah diletakkan di permukaan media MHA yang telah diinkubasi dengan bakteri menggunakan penggaris. Interpretasi hasil uji sensitivitas pengukuran diameter zona hambat menurut CLSI pada antibiotik Cefazolin didefinisikan sebagai diameter zona hambat dengan nilai sensitif ≥ 23 mm, intermediet 20–22 mm dan resistan ≤ 19 mm dan pada antibiotik Gentamisin dengan nilai sensitif ≥ 15 mm, intermediet 13–14 mm dan intermediet ≤ 12 mm.²¹

Teknik Analisis Data

Data yang didapatkan diolah dengan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) edisi 22. Data diuji menggunakan *Independent T-test*. Uji dilakukan dengan signifikansi $p < 0,05$.

HASIL PENELITIAN

Hasil Pengukuran Kadar Pb

Hasil pengukuran kadar Pb dari tanah dalam TPA Supit Urang Kota Malang (T1) lebih banyak daripada kadar Pb dari tanah luar fasilitas TPA Supit Urang Kota Malang (T2) dapat dilihat pada Tabel 1. Pada T1 hasil pengukuran kadar Pb yaitu sebesar 12,65 mg/kg, sedangkan pada T2 tidak terdeteksi.

Tabel 1 Hasil Pengukuran Kadar Pb (Uji AAS)

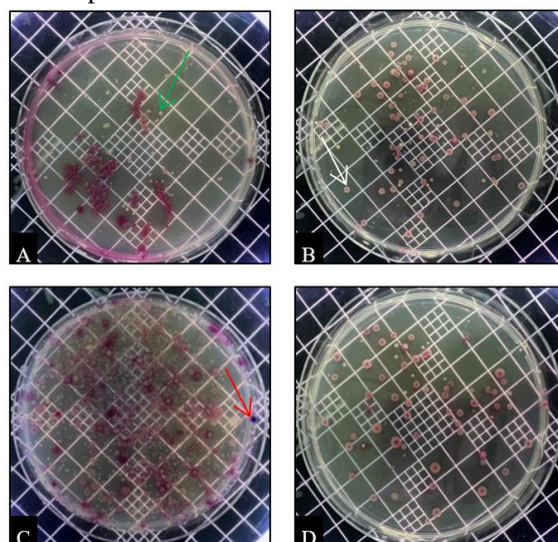
Sampel Tanah	Pereaksi	Hasil Analisis
T1	HNO ₃	12,65 mg/kg
T2	HNO ₃	Tidak terdeteksi

Keterangan: (T1) tanah dalam TPA Supit Urang Kota Malang. (T2) tanah luar fasilitas TPA Supit Urang Kota Malang.

Hasil Perhitungan Jumlah Koloni *Enterobacter sp.* dari Tanah TPA di T1 dan T2 Menggunakan Media CHROMagar Dengan atau Tanpa Pb

Hasil perhitungan jumlah koloni *Enterobacter sp.* Pada T1 dan T2 dapat dilihat pada gambar 1. Pada sampel uji T1 dengan dan tanpa Pb menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$). Sedangkan pada sampel T2 dengan dan tanpa Pb terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Kemudian jumlah koloni *Enterobacter sp.* pada T1 lebih sedikit dibandingkan dengan T2 dan juga terdapat berbeda signifikan dibandingkan dengan T2 dengan dan tanpa Pb yang dapat

dilihat pada Tabel 2.



Gambar 1 Cawan Media CHROMagar yang Terinokulasi dengan Tanah TPA

Keterangan: (A) T1 tanpa Pb, panah hijau: bakteri *Pseudomonas sp.*; (B) T1 dengan Pb, panah putih: bakteri *Enterobacter sp.*; (C) T2 tanpa Pb, panah merah: bakteri *Escherichia coli*; (D) T2 dengan Pb.

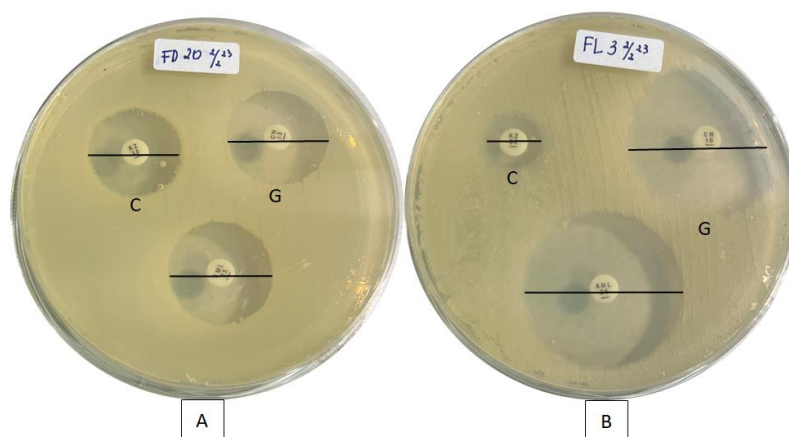
Tabel 2 Hasil Perhitungan Jumlah Koloni *Enterobacter sp.* dari Tanah TPA di T1 dan T2 Menggunakan Media CHROMagar Dengan atau Tanpa Pb

Sampel	Total <i>Enterobacter sp.</i> (CFU/mL) (Mean $\pm$ SD)
T1 dengan Pb	310 $\pm$ 141 ^a
T1 tanpa Pb	760 $\pm$ 1295 ^a
T2 dengan Pb	2900 $\pm$ 1582 ^b
T2 tanpa Pb	6100 $\pm$ 1317 ^c

Keterangan: a,b,c, adalah notasi berbeda yang menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,005$, Uji *Independent T-test*)

Hasil Uji Sensitivitas Cefazolin dan Gentamisin

Hasil uji sensitivitas pada Cefazolin dan Gentamisin terhadap *Enterobacter sp.* Dari T1 dan T2 dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 3. Hasil uji nilai zona hambat Cefazolin T1 dan T2 adalah resistan dan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kedua perlakuan ($p < 0,05$). Kemudian nilai zona hambat pada Gentamisin T1 dan T2 yaitu terdapat penurunan sensitivitas antibakteri dan tidak berbeda signifikan. Sedangkan nilai zona hambat Gentamisin T1 dan T2 lebih banyak dibandingkan Cefazolin T1 dan T2 serta terdapat perbedaan yang signifikan antar kedua antibakteri ($p < 0,05$).



Gambar 2 Hasil Pengukuran Zona Hambat *Enterobacter* sp.

Keterangan: (A) T1; (B) T2; (C) Cefazolin; (G) Gentamisin

Tabel 3 Hasil Pengukuran Zona Hambat *Enterobacter* sp. pada Antibiotik Cefazolin dan Gentamisin

Tabel 5 Hasil Pengukuran Zona Hambat <i>Enterobacter sp.</i> pada Antibiotik Cefazolin dan Gentamisin							
Antibiotik	Keterangan	Sampel (n)	Diameter Zona Hambat (mm)				
			Mean $\pm$ SD	Median	Minimum	Maximum	
Cefazolin	T1 (dalam)	Σ S	22	13,7 $\pm$ 9,0 ^a	9	6	29
		Σ I	5	28,2 $\pm$ 1,8	29	25	29
		Σ R	1	21	-	-	-
			16	8,7 $\pm$ 3,3	7,5	6	18
	T2 (luar)	Σ S	22	9,5 $\pm$ 4,1 ^a	7	6	20
		Σ I	0	-	-	-	-
		Σ R	1	20	-	-	-
			21	9,0 $\pm$ 3,4	7	6	18
Gentamisin	T1 (dalam)	Σ S	22	24,2 $\pm$ 2,4 ^b	23,5	21,0	29,0
		Σ I	22	24,2 $\pm$ 2,4	23,5	21,0	29,0
		Σ R	-	-	-	-	-
			-	-	-	-	-
	T2 (luar)	Σ S	22	26,6 $\pm$ 5,0 ^b	25	19,0	38,0
		Σ I	22	26,6 $\pm$ 5,0	25	19,0	38,0
		Σ R	-	-	-	-	-
			-	-	-	-	-

Keterangan: a dan b adalah notasi berbeda menunjukkan perbedaan efek antibakteri ($p < 0,005$, Uji Independent T-test)

*: Kategori respon penghambatan pertumbuhan bakteri menurut Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)²¹

PEMBAHASAN

Kadar Logam Berat Pb pada Tanah Dalam dan Luar TPA Supit Urang Kota Malang

Hasil pengukuran kadar logam berat Pb menunjukkan kadar Pb pada T1 yaitu 12,65 mg/kg. Sedangkan pada T2 tidak teridentifikasi kadar logam berat Pb. Penelitian pada tahun 2017 kadar Pb di TPA Supit Urang terdeteksi 8,82 mg/kg.³ Pada TPA di daerah lain di Jawa kadar Pb dapat berkisar dari 7,17-215,68 mg/kg.^{15,38} Berdasarkan *Ministry of State for Population and Enviromental of Indonesia, and Dalhousie, University Canada* (1992) nilai ambang batas keamanan kadar Pb adalah 100 mg/kg.³³ Hal ini menunjukkan bahwa kadar Pb di tanah TPA masih dalam ambang batas keamanan.

Tanah TPA dapat mengandung logam berat Pb yang berasal dari tumpukan sampah seperti pipa, baterai bekas, dan aki bekas yang

akan menghasilkan logam berat yang mencemari lingkungan.²⁷ Logam berat Pb berada di tanah dalam bentuk kation Pb^{2+} yang kemudian akan berikatan kuat dengan anion sehingga logam berat akan membentuk kompleks organologam (bentuk logam organik dan logam anorganik) yang cenderung mengendap di tanah.⁴⁶ Sifat logam berat Pb yaitu tidak dapat terurai (*non degradable*) dan mudah diabsorpsi serta tidak dipengaruhi oleh suhu dan pH.⁴⁷ Sehingga tidak membuat logam berat Pb mudah rusak dan kadar nya terdeteksi pada TPA. Logam berat khususnya Pb mempunyai kelarutan paling tinggi sehingga mudah terarsorpsi ke dalam tanah, namun Pb akan tertahan di lapisan tanah bagian atas dan tidak bisa larut pada tanah ke lapisan yang lebih dalam maupun air tanah dikarenakan berat atom 207,2 berbentuk padat dan memiliki berat jenis

sebesar 11,4/l.⁴⁵

TPA merupakan tempat pembuangan paling akhir di kota Malang yang mana semakin bertambahnya penduduk maka semakin meningkat volume sampah setiap tahunnya.²² Pada tahun 2012 di kota Malang jumlah sampah yang terangkut ke dalam TPA adalah sebesar 607,44 ton/hari.²² Semakin meningkat volume sampah maka semakin banyak juga jenis sampah yang tertampung di T1 dibandingkan dengan T2 yang berada di luar fasilitas TPA dengan jumlah sampah yang lebih sedikit. Kemungkinan hal tersebut menyebabkan kadar logam berat Pb pada T2 tidak terdeteksi.

Kadar Pb pada T2 tidak terdeteksi kemungkinan dikarenakan jarak T2 yang lebih dari 1 km dari T1 sehingga dapat mencegah pencemaran limbah Pb. Selain itu juga kemungkinan karena struktur tanah pada T2 lebih tinggi daripada T1. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lanjutan uji kadar Pb pada jarak 100-500 meter dari pusat TPA Supit Urang Kota Malang untuk mengetahui tingkat pencemarannya.

Jumlah Koloni *Enterobacter sp.* dari Tanah TPA di T1 dan T2 Menggunakan Media CHROMagar Dengan atau Tanpa Pb

Jumlah bakteri *Enterobacter sp.* pada tanah T2 yang terisolasi lebih banyak daripada tanah di T1 baik dengan maupun tanpa Pb. Namun, perbedaan signifikan hanya didapatkan pada tanah T2. Hal tersebut menunjukkan hasil isolasi bakteri *Enterobacter sp.* berkisar antar 310-6100 CFU/mL. Sedangkan pada penelitian lain umumnya jumlah bakteri yang ditemukan mencapai 10^8 - 10^9 CFU/mL.³² Namun pada penelitian lain tersebut biasanya tidak dilakukan penentuan dan perhitungan khusus untuk identifikasi bakteri *Enterobacter sp.* Populasi *Enterobacter sp.* di tanah dapat berbeda-beda tergantung dari lokasi tanahnya.⁴¹ Hal ini terlihat pada tingginya jumlah koloni *Enterobacter sp.* ditanah perkebunan karena *Enterobacter sp.* dapat mendukung pertumbuhan tanaman.⁴⁰ Pada tanah TPA Supit Urang Kota Malang bakteri yang banyak terisolasi adalah *Pseudomonas sp.*³⁴ Dari famili *Enterobacteriaceae* seperti *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Proteus sp.* dan *Serratia marcescens* juga ditemukan di TPA Suwung namun, jumlah koloni *Enterobacter* tidak diketahui.⁴²

Selain itu, perbedaan jumlah koloni tersebut kemungkinan karena perbedaan media yang digunakan. Isolasi bakteri *Enterobacteriaceae* sering menggunakan media

MacConkey untuk menumbuhkan, membiakkan bakteri dan membedakan bakteri berdasarkan kemampuan fermentasi laktosa. Sedangkan pada penelitian ini digunakan media CHROMagar yang merupakan media selektif diferensial. Media ini dapat menumbuhkan dan membedakan empat genus bakteri yakni *Pseudomonas sp.*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, dan *Enterobacter sp.*, dimana perbedaan ini akan terlihat dengan warna pertumbuhan koloni yang berbeda.³⁹

Jumlah koloni *Enterobacter sp.* tanah T2 pada media tanpa Pb memiliki jumlah koloni yang lebih banyak. Hal tersebut dapat dikarenakan tanah T1 memiliki logam berat Pb yang sesuai dengan hasil kadar Pb pada penjelasan sebelumnya. Dan kadar Pb pada T1 juga tidak melebihi kadar Pb toksik yaitu > 200 mg/kg.³⁶ Sehingga hal ini dapat menjadi penjelasan bahwa tanah T2 memiliki jumlah koloni yang lebih besar dari T1. Logam berat Pb merupakan unsur yang sering ditemukan pada tanah. Kadar Pb yang tinggi pada tanah dari TPA dapat menyeleksi bakteri *Enterobacter sp.* yang tahan terhadap logam berat tersebut. Sehingga *Enterobacter sp.* memiliki kemampuan pertahanan terhadap Pb dan jumlah koloni yang teridentifikasi lebih sedikit.

Uji Sensitivitas *Enterobacter sp.* Dengan Atau Tanpa Pb Terhadap Cefazolin

Hasil pada T1 menunjukkan antibiotik Cefazolin didapatkan 16 sampel resistan, 1 sampel intermediet dan 5 sampel sensitif. Sedangkan pada T2 menunjukkan antibiotik Cefazolin didapatkan hasil 21 sampel resistan, 1 sampel intermediet. Berdasarkan hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya resistansi *Enterobacter sp.* pada T1 dan T2 terhadap antibiotik Cefazolin. Hal ini didukung secara klinis pada uji sensitivitas *Enterobacter sp.* terhadap spesimen urin di RSUP Sanglah yang dilakukan oleh Janasuta *et al* (2020) menyatakan bahwa *Enterobacter sp.* mengalami 100% resistan terhadap Cefazolin.

Cefazolin merupakan antibiotik spektrum luas golongan sefalosporin yang termasuk kelompok beta-laktam dan bekerja dengan cara menghambat pembentukan dinding sel bakteri.²⁸ Menurut CLSI Cefazolin merupakan antibiotik profilaksis *first line* untuk menangani infeksi. Namun, berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa Cefazolin telah resistan dan sudah tidak lagi bisa digunakan untuk menangani infeksi yang disebabkan oleh *Enterobacter sp.*

Selain itu, kontaminasi logam Pb diketahui dapat menyebabkan seleksi bakteri yang resistan logam berat dan dapat disertai dengan resistansi silang terhadap multi-antibiotik. Hal itu karena adaptasi bakteri melalui proses mutasi dengan memodifikasi target sel, kemudian pengeluaran senyawa dengan pompa refluks, dan menurunkan permeabilitas membran sel dan memproduksi enzim.²⁴ Resistansi kemudian berkembang luas melalui mekanisme transfer gen horizontal yang melibatkan transformasi, transduksi, dan konjugasi.²⁵ Resistansi *Enterobacter sp.* terhadap Pb juga terkait dengan keberadaan gen resistan yang berada dalam kromosom, plasmid, dan transposon. Gen resistan ini mengontrol munculnya mekanisme resistansi bakteri. Kemudian akumulasi Pb dalam sel terus menerus sampai batas di mana bakteri tidak mampu lagi mentoleransi kandungan logam berat dalam tubuhnya hingga terjadilah resistansi.²⁶

Uji Sensitivitas *Enterobacter sp.* Dengan Atau Tanpa Pb Terhadap Gentamisin

Hasil pada T1 dan T2 antibiotik Gentamisin didapatkan masing-masing 22 sampel adalah sensitif. Berdasarkan hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya penurunan sensitivitas *Enterobacter sp.* pada T1 dan T2 antibiotik Gentamisin. Hal ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Janasuta *et al* (2020) menyatakan bahwa *Enterobacter sp.* sensitif (66,7%) terhadap Gentamisin. Hal ini juga didukung dengan penelitian di RSUD Ulin Banjarmasin terhadap uji sensitivitas antibiotik Gentamisin yang mempunyai sensitivitas sebesar 96,7% pada bakteri yang berbeda.

Gentamisin merupakan antibiotik spektrum luas golongan aminoglikosida yang termasuk kelompok Oxazolidinones.^{28,30} Cara kerja Gentamisin sebagai antibakteri adalah berikatan dengan komponen ribosom 30S sehingga menyebabkan kode pada mRNA salah saat dibaca oleh tRNA pada sintesis protein. Sehingga pembentukan protein menjadi abnormal dan nonfungsional bagi sel bakteri.³¹ Penurunan sensitivitas pada Gentamisin belum tentu bisa dikaitkan dengan kontaminasi dari logam berat Pb saja. Karena tanah pada T1 juga terpapar oleh logam berat lain seperti yang telah dilakukan oleh Salsabilla *et al.*, (*inpress*) yaitu kadar logam berat Cd (Kadmium) sebesar 0,55 mg/kg. Oleh karena adanya kontaminasi dari logam berat tersebut, kemungkinan dapat menyebabkan penurunan tingkat sensitivitas

antibiotik.

Pada hasil penelitian ini terdapat perbedaan tingkat resistansi dan sensitivitas antibiotik. Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa masing-masing antibiotik memiliki kemampuan toleransi yang berbeda terhadap *Enterobacter sp.* Hal itu kemungkinan karena perbedaan golongan antibiotik dan kandungan senyawa aktif yang terdapat pada Cefazolin dan Gentamisin serta karena perbedaan lingkungan hidup bakteri yang berbeda yaitu pada daerah T1 dan T2. Hal ini juga dapat dikarenakan perbedaan kelarutan jenis Pb yang digunakan, pada penelitian ini menggunakan serbuk Pb acetate trihydrate dengan konsentrasi 800 ppm, yang mana jenis Pb ini kurang efektif untuk mengisolasi pertumbuhan bakteri media CHROMagar. Oleh karena itu bisa dilanjutkan penelitian selanjutnya untuk menggunakan jenis logam berat Pb lainnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan diatas dapat disimpulkan bahwa:

1. Kadar logam berat Pb pada tanah dalam TPA Supit Urang Kota Malang lebih tinggi dari tanah luar fasilitas TPA Supit Urang Kota Malang
2. Jumlah koloni *Enterobacter sp.* dari tanah yang mengandung dan tidak mengandung Pb menunjukkan T1 lebih sedikit dibandingkan dengan T2
3. 72,7% - 95,4% bakteri *Enterobacter sp.* yang terisolasi dari tanah dalam dan luar fasilitas TPA Supit Urang Kota Malang bersifat resistan terhadap Cefazolin
4. 100% bakteri *Enterobacter sp.* yang terisolasi dari tanah dalam dan luar fasilitas TPA Supit Urang Kota Malang bersifat sensitif terhadap Gentamisin.

SARAN

1. Melakukan uji analisa genetik untuk mengetahui ada tidaknya gen HMG dan ARG pada *Enterobacter sp.*
2. Melakukan uji kadar Pb pada jarak 100-500 meter dari pusat TPA Supit Urang Kota Malang untuk mengetahui tingkat pencemarannya.
3. Melakukan penelitian lebih lanjut untuk identifikasi bakteri di TPA Supit Urang Kota Malang selain *Enterobacter sp.*
4. Berdasarkan penelitian ini penggunaan antibakteri yang baik untuk infeksi *Enterobacter sp.* adalah menggunakan Gentamisin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya sampaikan kepada Ikatan Orang tua Mahasiswa (IOM) FK UNISMA yang telah mengintensif penelitian ini, serta kepada Dr. dr. Dini Sri Damayanti, M.kes sebagai *peer reviewer*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anam, M. M., Kurniati, E., & Suharto, B. 2013. *Penurunan Kandungan Logam Pb dan Cr Leachate Melalui Fitoremediasi Bambu Air (Equisetum hyemale) dan Zeolit*. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis Dan Biosistem*, 1(2).
2. Gunamantha, I. M. 2011. *Memprediksi Higher Heatinng Value Komponen Biogenik Sampah dari Data Analisis Ultimatnya*. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Sains & Humaniora*, 5(3).
3. Tanama, A., Nurwidodo, & Rahardjanto, A. 2017. *Pengaruh Keberadaan Lumbricus rubellus (Hoffmeister) terhadap Kandungan Logam Timbal di Tanah TPA Supit Urang Malang*. *Prosiding Seminar Nasional III*, 283–286.
4. Nurfitriani, S. 2017. *Bioakumulasi Logam Berat Timbel (Pb) pada Ikan Nila (Oreochromis niloticus) di Sekitar Tambak Muara Sungai Pangkajene Kabupaten Pangkep*. *Journal Environmental Science*.
5. Rahadi, B., Susanawati, L. D., & Agustianingrum, R. 2019. *Bioremediasi Logam Timbal (Pb) Menggunakan Bakteri Indigenous Pada Tanah Tercemar Air Lindi (Leachate)*. *Jurnal Sumberdaya Alam Dan Lingkungan*, 6(3): 11–18.
6. Nursanty, R., Sari, W., Safranita, Nursanty, R., Sari, W., Safranita, Sari, W., & Safranita, S. 2019. *Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Enterobacteriaceae pada Telur Penyu Lekang (Lepidochelys olivacea) asal Lhok Pante Tibang, Banda Aceh*. *Jurnal Sain Veteriner*, 37(1): 41-48.
7. Kristensen, D. M., Wolf, Y. I., & Koonin, E. V. 2017. *ATGC Database and ATGC-COGs: an Updated Resource for Micro- and Macro-Evolutionary Studies of Prokaryotic Genomes and Protein Family Annotation*. *Nucleic Acids Research*, 45(1): 210–218.
8. Yang, S., Deng, W., Maurya, S., Yu, X., Mustafa, G. R., Chen, S., He, L., Ao, X., Yang, Y., Zhou, K., Li, B., Han, X., Xu, X., & Zou, L. 2020. *Presence of Heavy Metal Resistance Genes in Escherichia coli and Salmonella Isolates and Analysis of Resistance Gene Structure in E. coli*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*.
9. Hu, H. W., Wang, J. T., Li, J., Li, J. J., Ma, Y. B., Chen, D., & He, J. Z. 2016. *Field-Based Evidence for Copper Contamination Induced Changes of Antibiotic Resistance in Agricultural Soils*. *Environmental Microbiology*, 18(11).
10. Wang, R., Lai, T. P., Gao, P., Zhang, H., Ho, P. L., Woo, P. C. Y., Ma, G., Kao, R. Y. T., Li, H., & Sun, H. 2018. *Bismuth Antimicrobial Drugs Serve as Broad-Spectrum Metallo- β -lactamase Inhibitors*. *Nature Communications*, 9(1).
11. Prasetyo, D. S., Herna, H., Mursinah, M., Ibrahim, F., & Bela, B. 2022. *Uji In Vitro Beberapa Kombinasi Antibiotik Antipseudomonas terhadap Pseudomonas aeruginosa yang Resistan terhadap Karbapenem*. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*.
12. California, S. H., Sinuraya, R. K., Halimah, E., & Subarnas, A. 2018. *Perbandingan Efektivitas Ampisilin dengan Ampisilin-Gentamisin pada Pasien Balita dengan Pneumonia*. *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*, 7(1).
13. Normaliska, R., Sudarwanto, M. B., & Latif, H. 2019. *Pola Resistansi Antibiotik pada Escherichia coli Penghasil ESBL dari Sampel Lingkungan di RPH-R Kota Bogor*. *Acta VETERINARIA Indonesiana*, 7(2): 42-48.
14. Janasuta, P. B. R., Sukrama, D. M., & Dwija, I. B. N. P. 2020. *Pola Kepekaan Bakteri Enterobacter Sp Yang Diisolasi Dari Spesimen Urin Di RSUP Sanglah*. *Jurnal Medika Udayana*, 9(1): 51–56.
15. Anjelina, M., Rustamaji, & Fitrianiingsih, Y. 2021. *Kontaminasi Logam Berat Pb dan Cd pada Tanah di Area TPA Sampah Kelurahan Batu Layang Kota Pontianak*. *Jurnal Rekayasa Lingkungan Tropis*, 2(2): 1–10.
16. El Baz, S., Baz, M., Barakate, M., Hassani, L., El Gharmali, A., & Imziln, B. 2015. *Resistance to and Accumulation of Heavy Metals by Actinobacteria Isolated from Abandoned Mining Areas*. *The Scientific World Journal*.
17. Sukmawati, S., & Hardianti, F. 2018. *Analisis Total Plate Count (TPC) Mikroba pada Ikan Asin Kakap di Kota Sorong Papua Barat*. *Jurnal Biodjati*, 3(1): 78.
18. Pambudi, A., Susanti, S., & Priambodo, T. W. 2017. *Isolasi Dan Karakterisasi*

- Bakteri Tanah Sawah Di Desa Sukawali Dan Desa Belimbing, Kabupaten Tangerang*. Al-Kauniyah: Jurnal Biologi, 10(2): 105–113.
19. Atmojo Tri, A. 2016. *Media Mueller Hinton Agar*. HiMedia Laboratories, 4(4): 4–6.
 20. Hudzicki, J. 2012. *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. American Society For Microbiology.
 21. Standards, P., & Testing, A. S. (2022). M100 Performance Standards for Antimicrobial. In *Clinical and Laboratory Standards Institute* (Vol. 40, Issue 1).
 22. Arief, S. (2013). *Pengelolaan Sampah Malang Raya Menuju Pengelolaan Sampah Terpadu Yang Berbasis Partisipasi Masyarakat* Waste Management of Malang to Integrated Waste Management Based Public Participation. *Jurnal Humanity*, 8(2), 195–208.
 23. ADACHI, A., OKIAYU, M., NISHIKAWA, A. and KOBAYASHI, T. (1998) *Metal levels in rain water from Kobe City in Japan*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 60(6), pp. 892-897.
 24. Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., & Biondo, C. *Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens*. Pathogens (Basel, Switzerland). 2021; 10(10):1310.
 25. Sun D. Pull in and Push Out: *Mechanisms of Horizontal Gene Transfer in Bacteria*. *Frontiers in microbiology*. 2018;9:2154.
 26. RACHMAWATY, F.J., DEWA, A.C., BUNGA, N., TITIS, N. and ENDRAWATI, T.B. (2009) *Manfaat Sirih Merah (Piper crocatum) sebagai agen anti bakterial terhadap bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif*. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia* 1(1), pp.1-7.
 27. Widyasari, N., Moelyaningrum, A. D., & Pujiati, R. S. (2013). *Analisis Potensi Pencemaran Timbal (Pb) Pada Tanah , Air Lindi Dan Air Tanah (Sumur Monitoring) Di Tpa Pakusari Kabupaten Jember*. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa, 1–8.
 28. Normaliska, R., Sudarwanto, M. B., & Latif, H. 2019. *Pola Resistansi Antibiotik pada Escherichia coli Penghasil ESBL dari Sampel Lingkungan di RPH-R Kota Bogor*. *Acta VETERINARIA Indonesiana*, 7(2): 42-48.
 29. Sanseverino, I., Cuenca, A. N., Loos, R., Marinov, D. & Lettieri, T. *State of the art on the Contribution of Water to Antimicrobial Resistance*. (2018).
 30. Endriastuti, N. E., Wahyono, D., & Sukarno, R. (2015). *Evaluasi Pendosisan Gentamisin Pada Pasien Anak Pneumonia Berat* Evaluation of Gentamicin Doses for Treating Children With Severe Pneumonia N. *Jurnal Management Dan Pelayanan Farmasi*, 5, 5 lembar.
 31. Trisna Anandita, N. G. (2021). *Pengaruh Pemberian Gentamisin pada Dosis Terapi Terhadap Ginjal Tikus Putih (Rattus Norvegicus)*. *Jurnal Health Sains*, 2(10), 1345–1350.
<https://doi.org/10.46799/jhs.v2i10.303>
 32. Abna, I. M., Mahayasih, P. G. M. W., & Amir, M. (2020). *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tanah Di Kelurahan Kampung Melayu Jakarta Timur*. *Archives Pharmacia*, 2, No.2, 102–111.
 33. Bapedal. 2000. *Studi Penyusunan Baku Mutu dan Kriteria Kerusakan Tanah*. Badan Pengendalian Dampak Lingkungan (Bapedal). Yogyakarta: Pusat Penelitian Lingkungan Hidup (PPLH) UGM, dan Pusat Studi Sumberdaya Lahan (PSSL) UGM.
 34. Puspitasari SD, Martino YA, Risandiansyah R. 2023. *UJI SENSITIVITAS Pseudomonas aeruginosa YANG DIISOLASI DARI TANAH TPA DAERAH MALANG MENGGUNAKAN MEDIA SELEKTIF TIMBAL (Pb) TERHADAP CEFTAZIDIME DAN GENTAMICIN*. *Jurnal Kedokteran Komunitas*. 11(2) : 1-8
 35. Sari, D. P., Rahmawati, & W, E. R. P. (2019). *Deteksi dan Identifikasi Genera Bakteri Coliform Hasil Isolasi dari Minuman Lidah Buaya*. *Jurnal Labora Medika*, 3(1), 29–35.
<http://jurnal.unimus.ac.id/index.php/JLabMed>
 36. Madhavan S, Rosenman KD, Shehata T. *Lead in soil: recommended maximum permissible levels*. *Environ Res*. 1989 Jun;49(1):136-42. doi: 10.1016/s0013-9351(89)80028-3. PMID: 2721474.
 37. Pertiwi, S., Rahman, E. Y., & Budiarti, L. Y. (2014). *Uji Sensitivitas Isolat Bakteri Pasien Urolithiasis Di Ruang Perawatan Bedah RSUD Ulin Banjarmasin Terhadap Antibiotik Terpilih*. 10(1), 49–59.
 38. Sudaryono, & Susanto, J. P. (2014).

- Biological Fertilizer Influence On The Accumulation Of Lead From Municipal Solid Waste Compost In Rice Plant Tissue. Pangan*, 24(1), 25–36.
39. Nadeem, S. G., Hakim, S. T., & Kazmi, S. U. (2010). *Use of CHROMagar Candida for the presumptive identification of Candida species directly from clinical specimens in resource-limited settings. Libyan Journal of Medicine*, 5(1), 1–6. <https://doi.org/10.3402/ljm.v5i0.2144>
 40. Andres-Barrao, C., Lafi, F. F., Alam, I., de Zélicourt, A., Eida, A. A., Bokhari, A., Alzubaidy, H., Bajic, V. B., Hirt, H., & Saad, M. M. (2017). *Complete genome sequence analysis of Enterobacter sp. SA187, a plant multi-stress tolerance promoting endophytic bacterium. Frontiers in Microbiology*, 8(OCT), 1–21. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02023>
 41. Widyanti, T., & Fatmawati, A. (2022). *Deteksi Kelompok Enterobacteriaceae pada Tanah di Lingkungan Tempat Pembuangan Akhir Sampah Tamangapa Kecamatan Manggala Makassar. Jurnal Ilmu Alam Dan Lingkungan*, 13(1), 23–31. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/jai2/article/view/20453>
 42. Komang, N., Wati, D. Y., Ketut Suarjana, G., Nengah, I., & Besung, K. (2016). *Perbandingan Bakteri Coliform pada Feses Sapi Bali Menurut Tingkat Kedewasaan dan Tipe Pemeliharaan (THE EFFECT OF MAINTENANCE TYPE AND MATURITY LEVEL OF BALI CATTLE TO THE TOTAL OF COLIFORM BACTERIA OF BALI CATTLE). Indonesia Medicus Veterinus Oktober*, 5(5), 430–437.
 43. Murray, A. K., Zhang, L., Yin, X., Zhang, T., Buckling, A., Snape, J., & Gaze, W. H. (2018). *Novel insights into selection for antibiotic resistance in complex microbial communities. MBio*, 9(4). <https://doi.org/10.1128/mBio.00969-18>
 44. Irianti, T. T., Kuswadi, Nuranto, S., & Budiyatni, A. (2017). *Logam Berat dan Kesehatan. Grafika Indah ISBN: 979820492-1, January 2017*, 1–131.
 45. Wahab, A. (2020). *Kemampuan Konsorsium Bakteri Sedimen Rawa Dalam Menurunkan Kandungan Sulfat Dan Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) Pada Air Asam Tambang Batubara. Doctoral dissertation, Universitas Hasanuddin Makassar*
 46. Suwarsito & Esti Sarjanti, 2014, “Analisa Spasial Pencemaran Logam Berat Pada Sedimen dan Biota Air Di Muara Sungai Serayu Kabupaten Cilacap”, at <http://geoedukasi.ump.ac.id/>
 47. Sri Asmorowati, D., & Susilogati Sumarti, S. (2020). *Perbandingan Metode Destruksi Basah dan Destruksi Kering untuk Analisis Timbal dalam Tanah di Sekitar Laboratorium Kimia FMIPA UNNES. Indonesian Journal of Chemical Science*, 09(03), 02–05. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>
 48. Joshua J. Steffan, Jade A. Derby and Eric C. Brevik: *Soil pathogens that may potentially cause pandemics, including severe acute respiratory syndrome (SARS) coronaviruses. Current Opinion in Environmental Science & Health 2020*, 17:35–40