

PENGARUH PAPARAN TEMBAGA TERHADAP TINGKAT RESISTENSI ANTIBIOTIK PADA *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* DI AIR LIMBAH RUMAH SAKIT TIPE C DI MALANG

Bunga Anggraeny, Citra Destya Rahma Putri, Raden Muhammad Hardadi Airlangga*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Air limbah Rumah Sakit mengandung mikroorganisme patogen seperti *P. aeruginosa* dan bahan kimia beracun termasuk logam berat tembaga. *P. aeruginosa* merupakan patogen oportunistik penyebab infeksi nosokomial dan mudah mengalami resistensi terhadap logam berat dan antibiotik. Tembaga di Rumah Sakit banyak digunakan sebagai bahan pelapis alat-alat medis karena bersifat antimikroba dan tahan terhadap korosi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh paparan tembaga pada *P. aeruginosa* dan tingkat resistensi terhadap antibiotik Meropenem, Ciprofloxacin, Ceftazidime, dan Gentamicin.

Metode: Penelitian experimental *in vitro*. Sampel diambil dan diukur kadar logam berat menggunakan metode *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS). Bakteri *P. aeruginosa* yang didapatkan dari sampel air limbah dilakukan uji optimasi *Total Plate Count* (TPC) dan metode mikro dilusi Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Bakteri *P. aeruginosa* dari sampel air limbah diisolasi pada media CHROMagar yang ditambahkan dengan Cu 800 ppm dan tanpa Cu sebagai kontrol serta dilakukan perhitungan TPC. Bakteri yang tumbuh di media dengan Cu, dilakukan uji sensitivitas terhadap meropenem, ciprofloxacin, ceftazidime dan gentamicin menggunakan metode *Kirby-Bauer*.

Hasil: Didapatkan bahwa kadar Cu dari air limbah sebesar 6,00 mg/L. Terdapat bakteri *P. aeruginosa* pada air limbah dengan rata-rata log 5,29 (CFU/ml) sedangkan rata-rata bakteri *P. aeruginosa* dengan tembaga 800 ppm sebesar log 3,43 (CFU/ml). Dari total koloni (n=25) tidak terdapat bakteri *P. aeruginosa* yang resisten terhadap antibiotik Meropenem, Ceftazidime, Ciprofloxacin, dan Gentamicin.

Simpulan: Bakteri yang resisten terhadap tembaga tidak mempengaruhi sensitivitas dari antibiotik Meropenem, Ciprofloxacin, Ceftazidime, Gentamicin.

Kata Kunci: Limbah air rumah sakit; *Pseudomonas aeruginosa*; paparan tembaga; resisten antibiotik

*Penulis Korespondensi:

dr. H. R. M. Hardadi Airlangga, Sp.PD

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

e-mail: -

THE EFFECT OF COPPER EXPOSURE ON THE LEVEL OF ANTIBIOTIC RESISTANCE IN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* IN TYPE C HOSPITAL WASTEWATER IN MALANG

Bunga Anggraeny, Citra Destya Rahma Putri, Raden Muhammad Hardadi Airlangga*
Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: Hospital wastewater contains pathogenic microorganisms such as *P. aeruginosa* and toxic chemicals including the heavy metal copper. *P. aeruginosa* is an opportunistic pathogen that causes nosocomial infections and is easily resistant to heavy metals and antibiotics. Copper is widely used in hospitals as a coating material for medical equipment because it is antimicrobial and resistant to corrosion. This study aims to analyze the effect of copper exposure on *P. aeruginosa* and the level of resistance to the antibiotics Meropenem, Ciprofloxacin, Ceftazidime, and Gentamicin.

Method: Experimental research *in vitro*. Samples were taken and heavy metal levels were measured using the method *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS). Bacteria *P. aeruginosa* obtained from wastewater samples were carried out optimization test *Total Plate Count* (TPC) and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) micro dilution method. Bacteria *P. aeruginosa* from wastewater samples isolated on CHROMagar media added with With 800 ppm and without Cu as a control and calculations were carried out TPC. Bacteria growing in media with Cu were tested for sensitivity to meropenem, ciprofloxacin, ceftazidime and gentamicin using the *Kirby-Bauer*.

Results: It was found that the Cu content of waste water was 6.00 mg/L. There were bacteria *P. aeruginosa* on wastewater on average log 5,29 (CFU/ml) while the average bacteria *P. aeruginosa* with copper 800 ppm of log 3.43 (CFU/ml). Of the total colonies (n=25) there were no bacteria *P. aeruginosa* which is resistant to the antibiotics Meropenem, Ceftazidime, Ciprofloxacin, and Gentamicin.

Conclusion: Copper-resistant bacteria do not affect the sensitivity of antibiotics Meropenem, Ciprofloxacin, Ceftazidime, Gentamicin

Keyword: Hospital wastewater (HWW); *Pseudomonas aeruginosa*; copper exposure, antibiotic resistance

*Correspondence Author:

dr. H. R. M. Hardadi Airlangga, Sp.PD

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

e-mail: -

PENDAHULUAN

Rumah Sakit dapat menjadi sumber penyebaran penyakit, pencemaran lingkungan serta masalah kesehatan lainnya (1). Berbagai aktivitas di Rumah Sakit dapat menghasilkan limbah yang dibagi menjadi limbah medis dan nonmedis. Air limbah yang dihasilkan dari fasilitas Rumah Sakit tersebut sering kali mengandung mikroorganisme patogen serta bahan kimia berbahaya. Keberadaan zat-zat tersebut dapat berpotensi menimbulkan penyakit nosokomial (2). Air limbah juga mengandung logam berat seperti tembaga (Cu), karena tembaga (Cu) sering digunakan di fasilitas kesehatan seperti sebagai bahan pelapis dari instalasi pipa air drainase, tiang infus, gagang pintu, dan permukaan toilet, dikarenakan tembaga bersifat antimikroba dan tahan terhadap korosi (1,3). Menurut Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2014, terdapat standar baku mutu untuk tembaga di air limbah yaitu sebesar 2 mg/L. Regulasi ini menetapkan parameter tersebut untuk memastikan bahwa kualitas air limbah yang dibuang ke lingkungan memenuhi kriteria tertentu, sehingga dapat mencegah pencemaran dan dampak negatif terhadap ekosistem serta kesehatan manusia (4).

Salah satu bakteri yang dapat ditemukan pada air limbah Rumah Sakit yaitu *Pseudomonas aeruginosa*, yang merupakan patogen oportunistik penyebab infeksi nosokomial (5). *Pseudomonas aeruginosa* dapat ditemukan pada saluran air rumah sakit karena *Pseudomonas aeruginosa* biasanya hidup pada lingkungan yang lembab (6). Pada Rumah Sakit di seluruh dunia, angka insiden infeksi nosokomial yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berkisar antara 10-15%, sementara di unit perawatan intensif sekitar 10-20% (7). *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram negatif yang lebih mudah mengalami resistensi dibandingkan bakteri Gram positif, disebabkan oleh perbedaan pada dinding selnya yang memiliki lapisan peptidoglikan yang jauh lebih tipis daripada bakteri Gram positif (8).

Pseudomonas aeruginosa juga dapat mengalami resistensi terhadap logam berat akibat paparan yang berkelanjutan. Resistensi ini terkait dengan gen resistensi *Heavy Metal Resisten Genes* (HMG) yang juga akan berpotensi berkaitan dengan munculnya *Antibiotik Resistance Genes* (ARG). Hal ini dapat menyebabkan terjadinya *cross-resistance*, di mana bakteri yang resisten

terhadap logam berat juga akan mengalami resistensi terhadap antibiotik (9).

Beberapa antibiotik yang digunakan untuk terapi infeksi *Pseudomonas aeruginosa* meliputi ciprofloxacin, gentamicin, ceftazidime, dan meropenem. Ciprofloxacin adalah antibiotik golongan kuinolon yang bekerja dengan menghambat aktivitas DNA gyrase bakteri (10). Gentamicin, antibiotik golongan aminoglikosida yang mengikat komponen ribosom 30S dan menyebabkan kesalahan pembacaan pada mRNA oleh tRNA selama sintesis protein, sehingga menghasilkan protein abnormal dan nonfungsional (11). Ceftazidime merupakan antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga, bekerja dengan menghambat enzim transpeptidase, menyebabkan dinding sel lisis dan membunuh bakteri (12). Meropenem, antibiotik golongan carbapenem yang bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri (13).

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menganalisis pengaruh paparan tembaga pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan tingkat resistensi terhadap antibiotik Meropenem, Ciprofloxacin, Ceftazidime, Gentamicin dari saluran pembuangan air di Rumah Sakit Tipe C di Malang.

METODE

Desain, Tempat, dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan secara eksperimental secara *in vitro* di laboratorium untuk mengetahui potensi resistensi antibiotik Gentamicin, Ceftazidime, Ciprofloxacin, dan Meropenem pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten terhadap tembaga (Cu) dari saluran pembuangan air Rumah Sakit Tipe C di Malang. Penelitian dilaksanakan bulan Juni-Juli 2024 di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (LPRK FK UNISMA).

Sampel dan Populasi Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah air limbah yang didapatkan dari saluran pembuangan air di Rumah Sakit Tipe C di Malang sebanyak satu kali sehari dalam 3 hari. Sedangkan populasi yang akan diteliti pada penelitian ini yaitu bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari saluran pembuangan air Rumah Sakit Tipe C di Malang.

TAHAPAN PENELITIAN

Pembuatan Media yang Digunakan dalam Penelitian

Media CHROMagar yang digunakan sebagai kontrol dibuat dengan menimbang 31 gr/L. Untuk media CHROMagar dengan Cu yaitu CHROMagar ditimbang 31 gr/L dan diberi serbuk Cu 1,32 gram. Sedangkan MacConkey ditimbang 25 gr/L dan Mueller Hinton Agar (MHA) dibuat dengan cara ditimbang 10 gram agar powder dan 10,5 gram serbuk Mueller Hinton Broth (MHB) dicampurkan dengan aquades. Selanjutnya, setiap media disterilkan dengan autoklaf selama sekitar 15 menit pada suhu 121°C, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri yang telah disterilkan dan dimasukkan ke dalam inkubator.

Pemeriksaan Kadar Logam Berat

Pemeriksaan kadar logam berat tembaga pada sampel air saluran pembuangan Rumah Sakit Tipe C di Malang dilakukan menggunakan metode AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*) yang dilakukan di Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.

Penentuan Dosis Tembaga yang Dapat Menghambat Pertumbuhan Bakteri

Optimasi dosis dan waktu paparan tembaga terhadap bakteri dilakukan dengan menggunakan enam cawan berisi koloni bakteri. Cawan-cawan tersebut diberi larutan CuSO₄ dengan konsentrasi tembaga yang berbeda, yaitu 0 ppm, 2 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 100 ppm, dan 1600 ppm dan diinkubasi selama 24 jam. Diamati dosis dan waktu paparan CuSO₄ yang dapat membunuh sekitar ±50% dari jumlah koloni awal, hasil yang didapatkan akan digunakan sebagai parameter optimum dalam penelitian.

Kultur Bakteri dari Sampel Limbah Air

Kultur bakteri dilakukan pada dua jenis media yaitu pada media *Chromogenic Coliform Agar* (CCA) tanpa tembaga dengan pengenceran 10⁰, dan media CCA dengan tembaga 800 ppm pada pengenceran 10⁻². Setelah itu, isolat *distreaking* dengan penuh pada seluruh permukaan media agar terdistribusi secara merata media dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh kemudian dianalisis berdasarkan warna koloni masing-masing bakteri. Bakteri *Escherichia coli* akan membentuk koloni berwarna biru, *Pseudomonas aeruginosa* tidak berwarna, dan *Enterobacter sp.* akan

membentuk koloni berwarna merah. Koloni bakteri yang tumbuh dihitung, dengan rentang yang dihitung antara 30-300 koloni cfu/g.

Penentuan Jumlah Sampel Penelitian Untuk Uji Sensitivitas Antibiotik

Jumlah sampel yang digunakan untuk penelitian dihitung dengan menggunakan rumus Slovin:

$$n = \frac{N}{1 + (N \times e^2)}$$

Keterangan :

n = jumlah sampel yang dicari

N = jumlah populasi

e = margin eror yang ditulis

Uji Determinasi *Pseudomonas aeruginosa*. dengan Pewarnaan Gram dan Pertumbuhan di MacConkey

Koloni *Pseudomonas aeruginosa* dari media CCA dengan tembaga 800 ppm, diinokulasi pada media MacConkey. Inokulasi dilakukan dengan cara mengambil koloni dengan ose disterilkan yang sudah dipanaskan, lalu streaking empat kuadran ke dalam media MacConkey. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diamati koloni yang tumbuh berdasarkan kemampuannya dalam memfermentasi laktosa, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* akan berwarna krem atau kekuningan.

Object glass dipanaskan di atas api bunsen, kemudian didinginkan dan ditetaskan dengan *saline* steril. Koloni dari media *MacConkey* diambil dengan jarum ose yang telah dipanaskan dan dicampurkan ke *normal saline* yang sudah ditetaskan pada *object glass*. *Object glass* ditunggu hingga kering dan dianginkan pada suhu ruangan. *Object glass* dipanaskan kembali di atas api bunsen untuk difiksasi. *Object glass* kemudian ditetesi dengan reagen *Crystal violet*, didiamkan selama 1 menit, dan dibilas dengan aquades. Selanjutnya, diberi reagen *Iodine* dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dibilas lagi dengan aquades. Tambahkan reagen *Safranin* dan didiamkan selama 30 detik sebelum dibilas dengan aquades hingga warna pada *object glass* hilang. Setelah itu, *object glass* dikeringkan dan diamati di bawah mikroskop perbesaran 1000x dengan minyak emersi.

Uji Sensitivitas Antibiotik

Uji sensitivitas bakteri terhadap antibiotik dilakukan dengan metode difusi

cakram (Kirby-Bauer). Diskus antibiotik Ceftazidime, Gentamicin, Ciprofloxacin, dan Meropenem diletakkan di atas media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah diberi pengenceran koloni bakteri uji yang telah terstandarisasi menggunakan standard McFarland ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Media kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter Zone of Inhibition (ZOI) di sekitar diskus antibiotik diukur menggunakan mistar dan dievaluasi berdasarkan ketentuan Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), sesuai dengan **Tabel 1**.

Tabel 1 Nilai Standar Resistensi Antibiotik

Jenis Antibiotik	Zone Diameter Breakpoints (nearest mm)		
	S	I	R
Ceftazidime 30 µg	≥ 17	13 – 16	≤ 12
Gentamicin 10 µg	≥ 15	13 – 14	≤ 12
Ciprofloxacin 5 µg	≥ 26	22 – 25	≤ 21
Meropenem 10 µg	≥ 23	20 – 22	≤ 19

ANALISIS DATA

Data yang didapatkan dianalisis menggunakan aplikasi *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Analisa dimulai dengan menguji homogenitas dan normalitas data untuk memastikan bahwa data terdistribusi secara homogen dan normal. Kemudian analisis dilanjutkan dengan melakukan uji *Independent T-Test* untuk mengevaluasi perbedaan antara kelompok, dengan tingkat signifikansi ($p < 0,05$).

HASIL PENELITIAN

Hasil Kadar Tembaga Pada Saluran Pembuangan Air Rumah Sakit Tipe C di Malang

Hasil pengukuran kadar Cu dari air limbah pre-IPAL Rumah Sakit Tipe C di Malang dengan menggunakan uji AAS ditunjukkan pada **Tabel 2**. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar Cu pada Rumah Sakit Tipe C di Malang melebihi dari baku mutu air limbah rumah sakit yang ditetapkan oleh peraturan Menteri lingkungan hidup Indonesia Nomor 5 Tahun 2014 yaitu sebesar 2 mg/L.

Tabel 2 Hasil Uji AAS

Sampel	Parameter	Hasil Analisis
Air Limbah Pre-IPAL	Cu	6,00 mg/L

Hasil Dosis Tembaga yang Dapat Menghambat Pertumbuhan Bakteri

Hasil optimasi dosis tembaga akan digunakan sebagai parameter optimum untuk penelitian. Optimasi dosis tembaga dengan metode *Total Plate Count* (TPC), ditentukan dari konsentrasi tembaga dalam ppm yang dapat membunuh bakteri hingga sekitar $\pm 50\%$ dari jumlah koloni awal. Hasil uji ditunjukkan pada **Tabel 3**.

Tabel 3 Hasil Uji Optimasi Dosis

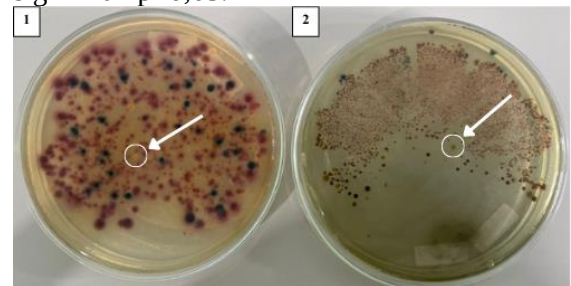
Sampel <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Rata-Rata Jumlah Koloni <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Konsentrasi Tembaga (Cuprum) dalam ppm					
	0	2	20	40	100	1600
Hari Pertama	8	5	4	3	0	0
Hari Kedua	458	439	468	471	443	0
Hari Ketiga	556	500	442	536	550	0

Keterangan: Dilakukan dengan pengenceran 10^6

Hasil Perhitungan Jumlah Koloni *Pseudomonas aeruginosa* di Saluran Pembuangan Air Rumah Sakit Tipe C di Malang Yang Resisten Terhadap Tembaga

Jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa* yang tumbuh pada media ChromAgar dengan tembaga 800 ppm dan tanpa tembaga dapat dilihat pada **Tabel 4**. Hasil kultur bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media ChromAgar dapat dilihat pada **Gambar 1** yang bewarna transparan (*colourless*).

Hasil perhitungan Total Plate Count (TPC) pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media ChromAgar dengan tembaga 800 ppm dan tanpa tembaga diubah menjadi CFU/ml untuk memperkirakan jumlah koloni yang terdapat dalam limbah air. Kemudian data tersebut diubah dalam bentuk $\log_{10}$ guna menganalisis perbedaan jumlah koloni bakteri dalam limbah dengan lebih detail. Selanjutnya, data yang didapatkan di uji independent t-test, hasil menunjukkan ada perbedaan secara signifikan $p < 0,05$.



Gambar 1 Hasil Kultur Koloni Bakteri pada media ChromAgar tanpa tembaga dan dengan tembaga 800 ppm

Keterangan : Panah menunjukkan (1) hasil kultur koloni bakteri pada media ChromAgar tanpa tembaga dan (2) hasil kultur koloni bakteri dengan tembaga 800 ppm.

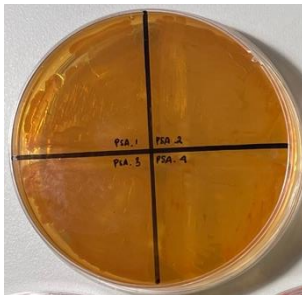
Tabel 4 Hasil TPC *Pseudomonas aeruginosa* yang tumbuh pada media ChromAgar dengan tembaga dan tanpa tembaga

Sampel	TPC	Signifikasi
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Log CFU/ml) (Mean $\pm$ SD)	
ChromAgar	5,29 $\pm$ 0,24	0.001
ChromAgar + Tembaga 800 ppm	3,43 $\pm$ 0,22	

Keterangan: Data dalam bentuk Mean $\pm$ SD dilakukan dengan uji statistik independent t-test.

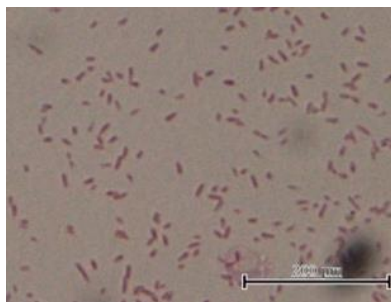
Hasil Uji Determinasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang Didapat dari Sampel Saluran Pembuangan Air Rumah Sakit Tipe C di Malang

Koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang didapatkan pada media Chrom Agar dan tembaga 800 ppm akan diinokulasikan pada media MacConkey. Hasil yang didapatkan pada media MacConkey, *Pseudomonas aeruginosa* akan terlihat pada **Gambar 2**. Kemudian dilakukan uji determinasi dengan pewarnaan Gram untuk memastikan bakteri yang didapat dari koloni yang dikultur pada media kultur merupakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil yang didapat setelah dilakukan pengecatan Gram, pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* akan berbentuk basil atau batang dan bewarna merah yang dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 2 Hasil Kultur Pada Media MacConkey

Keterangan: Hasil pada media MacConkey, *Pseudomonas aeruginosa* akan berwarna krem atau kekuningan karena *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri lactose fermenting negatif

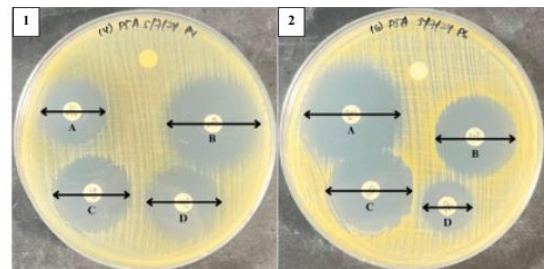


Gambar 3 Hasil Determinasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada Pewarnaan Gram perbesaran 1000x

Keterangan : Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berbentuk basil atau batang dan bewarna merah (Gram negatif)

Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik Meropenem, Ciprofloxacin, Gentamicin dan Ceftazidime pada Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Uji sensitivitas bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terhadap antibiotik meropenem, ciprofloxacin, gentamicin dan ceftazidime dilakukan dengan metode disc diffusion pada media MHA. Kemudian dilakukan pengukuran diameter Zone of Inhibition (ZOI) di sekitar lempengan diskus antibiotik menggunakan mistar dan di evaluasi hasil pengukuran ZOI sesuai ketentuan Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Hasil uji ditunjukkan pada **Tabel 5** dan gambaran hasil ZOI *Pseudomonas aeruginosa* pada antibiotik Meropenem, Ciprofloxacin, Gentamicin dan Ceftazidime ditunjukkan pada **Gambar 4**.



Gambar 4 Hasil ZOI *Pseudomonas aeruginosa* pada antibiotik Meropenem, Ciprofloxacin, Gentamicin dan Ceftazidime

Keterangan : Gambar (1) A Meropenem Intermediate; B Ciprofloxacin Sensitive; C Gentamicin Sensitive; D Ceftazidime Sensitive. Gambar (2) A Meropenem Intermediate; B Ciprofloxacin Sensitive; C Gentamicin Sensitive; D Ceftazidime Intermediate

Tabel 5 Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik

Antibiotik	Sampel Pre-IPAL		
		Jumlah Sampel n = 25 koloni)	Rerata Luas Zona Inhibisi (mm) $\pm$ SD
Meropenem	S	21 (84%)	36,47 $\pm$ 5,44
	I	4 (16%)	20,85 $\pm$ 0,76
	R	0 (0%)	-
Ciprofloxacin	S	25 (100%)	34,51 $\pm$ 5,11
	I	0 (0%)	-
	R	0 (0%)	-
Gentamicin	S	25 (100%)	23,93 $\pm$ 3,42
	I	0 (0%)	-
	R	0 (0%)	-
Ceftazidime	S	24 (96%)	30,20 $\pm$ 5,28
	I	1 (4%)	16,55
	R	0 (0%)	-

Keterangan: S: Susceptible, I: Intermediate, R: Resistant

PEMBAHASAN

Kadar Tembaga Pada Saluran Pembuangan Air Rumah Sakit Tipe C di Malang

Hasil pengukuran kadar Cu dari air limbah pre-IPAL Rumah Sakit Tipe C di Malang yaitu sebesar 6,00 mg/L. Menurut

Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2014, yang mengatur baku mutu untuk air limbah, batas maksimum konsentrasi tembaga dalam air limbah rumah sakit ditetapkan sebesar 2 mg/L (14). Hal ini mengindikasikan bahwa kadar tembaga (Cu) dalam air limbah pre-IPAL Rumah Sakit Tipe C di Malang melebihi batas ambang yang telah ditetapkan oleh regulasi tersebut.

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Suhendrayatna (2022) di sebuah rumah sakit pemerintah di Provinsi Aceh, ditemukan bahwa kadar tembaga (Cu) dalam air limbah berada di bawah 0,017 mg/L. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi tembaga tersebut relatif rendah dan masih dalam batas yang diizinkan. Adanya perbedaan hasil tersebut dikarenakan pada setiap rumah sakit yang ada di Indonesia memiliki metode pengolahan air limbah yang berbeda dan juga hanya di beberapa Rumah Sakit saja yang sudah mengamati standar kimia beracun yang terdapat pada air limbah (15). Sedangkan menurut Said Nusa Idaman (2016), tingginya kandungan logam berat, khususnya tembaga (Cu), dalam air limbah rumah sakit disebabkan oleh limbah cair yang berasal dari laboratorium. Limbah dari laboratorium sering kali mengandung konsentrasi logam berat yang tinggi, karena berbagai proses analisis dan eksperimen yang dilakukan di laboratorium melibatkan penggunaan bahan kimia yang mengandung logam berat. Oleh karena itu, limbah cair tersebut berpotensi meningkatkan kadar logam berat dalam air limbah rumah sakit secara keseluruhan (16). Selain dari sisa laboratorium, Cu pada Rumah Sakit diperoleh dari sisa metabolisme Cu yang didapatkan dari penggunaan Cu sebagai bahan pelapis di beberapa alat-alat medis dan pada pipa saluran pembuangan air di Rumah Sakit. Sehingga dapat meningkatkan pelepasan ion tembaga (Cu^{1+} dan Cu^{2+}) dan membuat kadar Cu dalam air tinggi (17).

Dosis Tembaga yang Dapat Menghambat Pertumbuhan Bakteri pada Saluran Pembuangan Air Rumah Sakit Tipe C di Malang

Optimasi dosis tembaga ditentukan dari konsentrasi tembaga yang dapat membunuh bakteri hingga sekitar $\pm 50\%$ dari jumlah koloni awal. Pada uji dengan konsentrasi 0 ppm, 2 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 100 ppm, dan 1600 ppm didapatkan hasil bahwa pada konsentrasi 1600 ppm semua bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tidak ada yang tumbuh di hari pertama, kedua dan ketiga. Sehingga *Pseudomonas aeruginosa*

akan mengalami resistensi pada konsentrasi antara lebih dari 100 dan kurang dari 1600. Karena pada konsentrasi 1600 bakteri tidak dapat tumbuh, maka konsentrasi yang ditetapkan adalah setengah dari 1600, yaitu pada konsentrasi 800. Hasil yang didapatkan tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya. Menurut Naz *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki konsentrasi hambat minimum (KHM) pada 500-800 ppm (18).

Jumlah Koloni *Pseudomonas aeruginosa* di saluran pembuangan air Rumah Sakit Rumah Sakit Tipe C di Malang yang resisten terhadap Tembaga

Hasil dari perhitungan total jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa* yang terdapat di saluran pembuangan air Rumah Sakit Tipe C di Malang pada media ChromAgar tanpa tembaga didapatkan rata-rata log 5,29 (CFU/ml) sedangkan rata-rata bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media ChromAgar dengan tembaga 800 ppm sebesar log 3,43 (CFU/ml). Rata-rata selisih yang didapat sebesar log 1,86 (CFU/ml), yang menunjukkan bahwa bakteri yang resisten tembaga lebih banyak dibandingkan bakteri yang sensitive. Dari rerata Log tersebut pada media ChromAgar tanpa tembaga dan dengan tembaga 800 ppm terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa* yang tumbuh di saluran pembuangan air Rumah Sakit ketika diberi tembaga dengan konsentrasi 800 ppm dan tanpa diberi tembaga.

Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Muslim dan Al-Saadi, (2023) didapatkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang terdapat pada Rumah Sakit memiliki tingkat resistensi yang tinggi terhadap logam berat cadmium (Cd) dan tembaga (Cu) (19). Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Deredjian, *et al* (2011) juga didapatkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki tingkat resisten terhadap Cu lebih tinggi dibandingkan logam berat lainnya (20).

Menurut Seiler and Berendonk (2012), faktor-faktor penyebab bakteri resisten terhadap tembaga yaitu karena kandungan tembaga pada saluran pembuangan air tinggi, waktu paparan tembaga terhadap bakteri dan adanya pengaruh dari kondisi lingkungan (21). Jika kandungan tembaga di saluran pembuangan tidak cukup tinggi, tekanan selektif untuk mengembangkan

atau mempertahankan resistensi menjadi tidak cukup kuat. Selain itu, waktu paparan yang singkat antara tembaga dan bakteri membuat bakteri tidak memiliki cukup waktu untuk mengembangkan atau mempertahankan resistensi, karena tanpa paparan yang konsisten dan cukup lama resistensi tidak akan berkembang. Kondisi lingkungan di saluran pembuangan seperti adanya senyawa kimia atau logam berat yang lebih dominan juga dapat mempengaruhi gen resistensi (22). Selain itu, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat resisten tembaga akibat adanya gen yang mengatur resistensi logam berat (*Heavy Metal Resistance Genes*) (23). Ketika bakteri terpapar terus-menerus logam berat maka bakteri mampu bertahan terhadap paparan tersebut karena akan terjadi mekanisme resistensi logam berat seperti efflux ion logam, sekuestrasi intraseluler dan ekstraseluler, serta reduksi ion logam (24).

Uji Sensitivitas Antibiotik Meropenem, Ciprofloxacin, Gentamicin dan Ceftazidime pada Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Uji sensitivitas antibiotik pada penelitian ini, menguji sensitivitas bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terhadap antibiotik Meropenem, Ciprofloxacin, Gentamicin dan Ceftazidime yang dilakukan dengan metode disc diffusion pada media MHA, yang kemudian diukur diameter Zone of Inhibition (ZOI) dalam mm di sekitar lempengan diskus antibiotik dan hasil yang didapatkan dikelompokkan sesuai ketentuan Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Hasil penelitian yang didapatkan dari total koloni (n=25) menunjukkan bahwa tidak terdapat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang resistensi terhadap antibiotik Meropenem, Ciprofloxacin, Gentamicin dan Ceftazidime. Pada antibiotik meropenem didapatkan 84% *Pseudomonas aeruginosa* sensitive dan 16% intermediet. Sedangkan pada antibiotik ciprofloxacin dan gentamicin 100% *Pseudomonas aeruginosa* sensitive. Pada antibiotik ceftazidime 96% *Pseudomonas aeruginosa* sensitive dan 4% intermediet.

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Alam and Imran (2018), didapatkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten terhadap tembaga (Cu) juga mengalami resisten terhadap antibiotik Amoxicillin, Erythromycin, Tetracycline, Amoxicillin, dan Ampicillin (25). Menurut Chen, *et al* (2019) resistensi antibiotik pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat dipengaruhi oleh adanya faktor intrinsik dan

ekstrinsik. Faktor intrinsik merupakan bagian dari sifat alami bakteri tersebut, sedangkan faktor ekstrinsik dipengaruhi oleh penggunaan antibiotik yang tidak tepat atau berlebihan dan juga karena adanya pengaruh lingkungan (26). Air limbah rumah sakit menyebabkan risiko bagi kesehatan dan lingkungan karena mengandung agen infeksius, obat-obatan, bahan kimia berbahaya, dan mengandung bakteri resisten yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang rentan, sehingga berpotensi meningkatkan prevalensi bakteri resisten antibiotik di area pembuangan air limbah. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa antibiotik yang dibuang ke dalam air limbah juga dapat menyebabkan penyebaran bakteri patogen yang resisten terhadap antibiotik di lingkungan sekitarnya (27). Lingkungan tersebut dapat berperan sebagai reservoir *Antimicrobial Resistance* (AMR) dan berperan penting dalam penyebaran *Antibiotic resistance genes* (ARG) (28). Sedangkan dari penelitian ini didapatkan bahwa ketika bakteri yang membawa *Heavy Metal Resistance Genes* (HMRGs) tidak selalu akan menimbulkan *cross-resistance* dengan antibiotik. Hal tersebut dikarenakan yaitu setiap bakteri mempunyai berbagai macam gen yang berbeda membuat bakteri memiliki ketahanan yang berbeda terhadap antibiotik atau logam berat serta beberapa mekanisme tersebut memerlukan waktu untuk berkembang atau menjadi efektif (29).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa :

1. Pada pre IPAL Rumah Sakit Tipe C di Malang memiliki kadar tembaga cukup tinggi yang melebihi dari buku mutu yang telah ditetapkan sehingga menyebabkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten tembaga cukup banyak.
2. Bakteri yang resisten terhadap tembaga tidak mempengaruhi sensitivitas dari antibiotik Meropenem, Ciprofloxacin, Ceftazidime, Gentamicin. Sehingga walaupun bakteri yang resisten tembaga cukup banyak pada air limbah tetapi antibiotik yang digunakan sebagai gold standar dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* masih dapat digunakan.

SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, peneliti menyarankan untuk dilakukannya penelitian lanjutan berupa analisa

pengaruh paparan tembaga pada *Pseudomonas aeruginosa* yang didapatkan dari Post IPAL. Selain itu, perlu adanya penelitian lanjutan berupa analisa profil resistensi terhadap beberapa logam berat lain yang terkandung pada air limbah Rumah Sakit serta dapat dilanjutkan uji lebih lanjut menggunakan berbagai jenis antibiotik dan kombinasi antibiotik yang digunakan dalam penanganan infeksi *Pseudomonas aeruginosa*. Peneliti juga menyarankan sebaiknya saluran air limbah dari kegiatan rumah sakit dipisahkan sesuai dengan jenis limbah yang dihasilkan, agar proses pengolahan air limbah dapat berlangsung secara lebih efektif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Saya mengucapkan terimakasih kepada IOM dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah memberikan kesempatan dan mendanai penelitian ini sehingga dapat berjalan dengan baik dan lancar. Saya mengucapkan terimakasih juga kepada Laboran FK UNISMA yaitu Nofie Irmalia Nurita, S.Si dan Arniyati, S.Si serta Pak Rio Risandiansyah, S.Ked., MP., PhD sebagai *Peer Review* jurnal ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sekarwati N. Dampak Logam Berat Cu (Tembaga) dan Ag (Perak) pada Limbah Cair Industri Perak Terhadap Kualitas Air Sumur dan Kesehatan Masyarakat serta Upaya Pengendaliannya di Kota Gede Yogyakarta (Doctoral dissertation, UNS (Sebelas Maret University)).
2. Azwari F, Hadidjah K, Benedicta CE, Wahyuni R. Analisis Parameter pH, BOD, TSS, Minyak Dan Lemak Serta Total Coliform Pada Limbah Cair Rumah Sakit Gerbang Sehat Long Bagun Mahakam Ulu. *Jurnal Pengendalian Pencemaran Lingkungan (JPPL)*. 2023 Apr 4;5(1):45-51.
3. Bisht N, Dwivedi N, Kumar P, Venkatesh M, Yadav AK, Mishra D, Solanki P, Verma NK, Lakshminarayanan R, Ramakrishna S, Mondal DP. Recent advances in copper and copper-derived materials for antimicrobial resistance and infection control. *Current Opinion in Biomedical Engineering*. 2022 Dec 1;24:100408.
4. Peraturan Menteri Lingkungan Hidup RI. Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup RI No. 5 Tahun 2014 tentang Baku Mutu Air Limbah. 2014.
5. Djasfar SP, Pradika Y. Identifikasi Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial (*Pseudomonas aeruginosa*) pada Lantai Intensive Care Unit (ICU). *Jurnal Medical Laboratory*. 2023 Jan 26;2(1):9-19.
6. Scania AE, Ningsih I. *Pseudomonas Aeruginosa: Permasalahan, Resistensi Antibiotik dan Pemeriksaan Mikrobiologi*. *Pratista Patologi*. 2023;8(3).
7. Primasari FS, Puspitasari I, Nuryastuti T. Prevalensi Bakteri Resisten Karbapenem di RSUP Dr. Sardjito Periode Januari-Agustus 2020. *Majalah Farmaseutik*.;18(3):265-71.
8. Nurcahyani N, Mayasari U, Nasution RA. Bioremediasi Timbal (Pb) Menggunakan Bakteri Indigenous Dari Sungai Tercemar Limbah Cair Pertambangan Emas Martabe Batang Toru. *BEST Journal (Biology Education, Sains and Technology)*. 2024 Jan 8;7(1):218-24.
9. Wang T, Wang X, Tian W, Yao L, Li Y, Chen Z, Han H. Screening of heavy metal-immobilizing bacteria and its effect on reducing Cd²⁺ and Pb²⁺ concentrations in water spinach (*Ipomoea aquatica* Forsk.). *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020 May;17(9):3122.
10. Sulviana AW, Puspawati N, Rukmana RM. Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dan Uji Sensitivitas terhadap Antibiotik dari Sampel Pus Infeksi Luka Operasi di RSUD Dr. Moewardi. *Biomedika*. 2017;10(2):18-24.
11. Anandita NG. Pengaruh Pemberian Gentamisin pada Dosis Terapi Terhadap Ginjal Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). *Jurnal Health Sains*. 2021 Oct 25;2(10):1345-50.
12. Dharmawan A, Layanto N. Efektivitas Ceftazidime-Avibactam terhadap Bakteri Gram Negatif Penghasil Enzim Karbapenemase. *Jurnal MedScientiae*. 2022 Jun 27;1(1):40-6.
13. Santoso I, Rostinawati T. Perkembangan Resistensi Antibiotik Meropenem

- Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, Serta *Klebsiella pneumoniae* Di Indonesia. Farmaka. 2022 Nov 30;20(3):123-34.
14. Peraturan Menteri Lingkungan Hidup RI. Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup RI No. 5 Tahun 2014 tentang Baku Mutu Air Limbah. 2014.
 15. Suhendrayatna S, Elviani E, Elvitriana E. Akumulasi Logam Berat pada Tanaman Pepaya (*Carica papaya*) Akibat Penggunaan Air Limbah Rumah Sakit sebagai Media Tumbuh. Jurnal Serambi Engineering. 2022 Aug 2;7(3).
 16. Said NI. Paket Teknologi Pengolahan Air Limbah Rumah Sakit Yang Murah Dan Efisien. Jurnal Air Indonesia. 2006;2(1).
 17. Virieux-Petit M, Hammer-Dedet F, Aujoulat F, Jumas-Bilak E, Romano-Bertrand S. From copper tolerance to resistance in *Pseudomonas aeruginosa* towards patho-adaptation and hospital success. Genes. 2022 Feb 4;13(2):301.
 18. Naz T, Khan MD, Ahmed I, Rehman SU, Rha ES, Malook I, Jamil M. Biosorption of heavy metals by *Pseudomonas* species isolated from sugar industry. Toxicology and industrial health. 2016 Sep;32(9):1619-27.
 19. Muslim HB, Al-Saadi AG. The Prevalence of some Heavy Metal Resistance Genes in *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Hospital Environments. InIOP Conference Series: Earth and Environmental Science 2023 Dec 1 (Vol. 1262, No. 2, p. 022006). IOP Publishing.
 20. Deredjian A, Colinon C, Brothier E, Favre-Bonté S, Cournoyer B, Nazaret S. Antibiotic and metal resistance among hospital and outdoor strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Research in microbiology. 2011 Sep 1;162(7):689-700.
 21. Seiler C, Berendonk TU. Heavy metal driven co-selection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture. Frontiers in microbiology. 2012 Dec 14;3:399.
 22. Knapp CW, McCluskey SM, Singh BK, Campbell CD, Hudson G, Graham DW. Antibiotic resistance gene abundances correlate with metal and geochemical conditions in archived Scottish soils. PloS one. 2011 Nov 9;6(11):e27300.
 23. Chen J, Li J, Zhang H, Shi W, Liu Y. Bacterial heavy-metal and antibiotic resistance genes in a copper tailing dam area in northern China. Frontiers in microbiology. 2019 Aug 20;10:1916.
 24. Hindersah R, Kamaluddin NN. Pengaruh timbal terhadap kepadatan sel dan kadar eksopolisakarida kultur cair *Azotobacter*. Bionatura J Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik. 2014;16(1):1-5.
 25. Alam M, Imran M. Screening and potential of the incidence of resistance transfer among the multidrug and heavy metal resistant Gram-negative isolates from hospital effluents of northern India. Recent patents on anti-infective drug discovery. 2018 Aug 1;13(2):164-79.
 26. Kaur R, Yadav B, Tyagi RD. Microbiology of hospital wastewater. InCurrent developments in Biotechnology and bioengineering 2020 Jan 1 (pp. 103-148). Elsevier.
 27. Ahmad I, Malak HA, Abulreesh HH. Environmental antimicrobial resistance and its drivers: a potential threat to public health. Journal of Global Antimicrobial Resistance. 2021 Dec 1;27:101-11.
 28. Fabian P, Alimsardjono L, Indiatuti DN. Pola resistensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Acinetobacter baumannii* pada spesimen darah terhadap antibiotik golongan β -laktam dan aminoglikosida di Rumah Sakit DR. Soetomo periode Januari 2016–Desember 2016. Jurnal Kedokteran Syiah Kuala. 2020 Apr 1;20(1).
 29. Tseng AS, Roberts MC, Weissman SJ, Rabinowitz PM. Study of heavy metal resistance genes in *Escherichia coli* isolates from a marine ecosystem with a history of environmental pollution (arsenic, cadmium, copper, and mercury). Plos one. 2023 Nov 16;18(11):e0294565.