

PAPARAN MERKURI (Hg) PADA *Staphylococcus aureus* MENYEBABKAN PEMANJANGAN FASE LAG TANPA PENURUNAN SENSITIVITAS ANTIBIOTIK

Yulia Resty, Rio Risandiansyah*, Sasi Purwanti

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (UNISMA)

ABSTRAK

Pendahuluan : Merkuri (Hg) adalah salah satu logam berat yang banyak digunakan secara legal maupun ilegal pada berbagai industri salah satunya adalah industri kosmetik (*Skincare*). Penggunaan Hg pada kulit dalam jangka panjang dikhawatirkan dapat mempengaruhi salah satu normal flora di kulit yaitu *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* yang bertahan hidup dibawah paparan Hg akan beradaptasi dan berpotensi menyebabkan terjadinya resistensi pada antibiotik. Penelitian ini akan melihat pengaruh paparan Hg pada kurva pertumbuhan dan sensitivitas antibiotik bakteri *Staphylococcus aureus*.

Metode : Penelitian ini menggunakan metode *in vitro* dengan melakukan pemaparan 7 dosis logam berat Hg 0,05 ppm, 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,8 ppm, 1,6 ppm dan 3,2 ppm pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Kemudian dilihat kurva pertumbuhannya melalui absorbansinya dengan spektrofotometri selama 24 jam dan menghitung nilai *Lag Extention* (LE) dengan membagi waktu fase lag kontrol dan fase lag perlakuan. Pada bakteri dengan pemanjangan fase lag dilakukan uji sensitivitas dengan metode *disc-diffusion* terhadap *Amoxicillin*, *Kloramfenikol*, *Tetrasiklin*, *Meropenem* dan *Trimetropim*. Uji statistik data menggunakan aplikasi R Studio Studio 1.2.5033 dengan uji *Kruskal wallis*

Hasil : Paparan Hg dengan dosis 0.05 ppm, 0.1 ppm dan 0.2 ppm menyebabkan pemanjangan fase lag dengan nilai LE 1,6, 2,3 dan 3. Sedangkan paparan Hg pada dosis lainnya tidak menunjukkan adanya pertumbuhan. Uji sensitivitas melalui zona inhibisi pada 5 antibiotik yaitu *Amoxicillin*, *Kloramfenikol*, *Tetrasiklin*, *Meropenem* dan *Trimetoprim* tidak didapatkan penurunan sensitivitas secara signifikan ($p < 0.05$).

Kesimpulan : Paparan Hg dosis 0,05 ppm, 0,1 ppm dan 0,2 ppm pada bakteri *S. aureus* menyebabkan pemanjangan fase lag namun tidak terdapat penurunan sensitivitas.

Kata kunci : Merkuri, Resistensi antibiotik, *Staphylococcus aureus*, Fase Lag

*Korespondensi Penulis :

Rio Risandiansyah

Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

Alamat : Jl. MT Hayono 193, Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

Email: riorisandiansyah@unisma.ac.id

MERCURY (Hg) EXPOSURE TO *Staphylococcus aureus* CAUSES LAG PHASE PROLONGATION WITHOUT DECREASING ANTIBIOTIC SENSITIVITY

Yulia Resty, Rio Risandiansyah*, Sasi Purwanti

Faculty of Medicine Universitas Islam Malang (UNISMA)

ABSTRACT

Introduction: Mercury (Hg) is a heavy metal that is widely used legally and illegally in various industries, one of which is cosmetic industry (*Skincare*). The longterm use of Hg on the skin is feared that it can affect one of the normal flora on the skin, *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* that survives from Hg exposure will adapt and potentially cause antibiotic resistance. This study examines the effect of Hg exposure on the growth curve and antibiotic sensitivity of *Staphylococcus aureus*.

Method : This study used an *in vitro* method by exposure to 7 doses of Hg 0,05 ppm, 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,8 ppm, 1,6 ppm and 3,2 ppm on *Staphylococcus aureus*. Then measured its growth curve using the absorbance from spectrophotometry for 24 hours and calculate the value of *Lag Extention* (LE) by dividing time of lag control and time of lag treatment phase. Bacteria that experience a prolonged lag phase were tested for antibiotic sensitivity using the *disc-diffusion* method against several antibiotics like *Amoxicillin*, *Chloramphenicol*, *Tetracycline*, *Meropenem*, and *Trimetropim*. Statistical analysis of the data used the R Studio 1.2.5033 application with *Kruskal Wallis*

Result : In this study showed that exposure to Hg with doses of 0.05 ppm, 0.1 ppm and 0.2 showed a prolongation of the lag phase with LE values were 1.6, 2.3 and 3. The exposure to Hg at other doses did not

show any growth. Sensitivity test result through the zone of inhibition on 5 antibiotics that are *Amoxicillin*, *Chloramphenicol*, *Tetracycline*, *Meropenem* and *Trimethoprim* showed no significant decrease in sensitivity ($p < 0.05$).

Conclusion : Exposure to Hg at doses of 0,05 ppm , 0,1 ppm, and 0,2 ppm on *S. aureus* caused prolongation of the lag phase however there is no decrease in sensitivity.

Keyword : Mercury, Antibiotic resistance, *Staphylococcus aureus*, Lag phase

*Corresponding author:

Rio Risandiansyah

Faculty of Medicine, Universitas Islam Malang

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

email: riorisandiansyah@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Merkuri adalah salah satu logam berat non-essensial yang bersifat toksik¹. Toksisitas merkuri berdampak pada mikroorganisme hingga manusia, akan tetapi penggunaannya masih banyak digunakan dalam berbagai bidang industri salah satunya adalah industri kosmetik atau yang biasa disebut *skincare*². Pada industri ini merkuri secara legal digunakan sebagai bahan campuran bahan pengawet dengan batas penggunaan dibawah 1 mg/kg (1 ppm) akan tetapi banyak ditemukan diatas batas ambang tersebut². Selain itu secara illegal merkuri banyak digunakan dalam bahan campuran kosmetik sebagai agen pemutih³.

Meskipun dalam konsentrasi rendah penggunaan jangka panjang dikhawatirkan dapat mempengaruhi normal flora pada kulit salah satunya adalah bakteri *Staphylococcus aureus*⁴. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang merupakan bakteri komensal sekaligus bakteri patogen⁵. Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi kulit seperti impetigo hingga infeksi yang mengancam nyawa seperti septicemia, dan endocarditis⁵. Penanganan infeksi akibat *S. aureus* dapat menggunakan antibiotik berspektrum luas, akan tetapi pada saat ini banyak laporan mengenai resistensi *S. aureus* terhadap antibiotik⁶. Berdasarkan data WHO *S. aureus* menjadi 5 besar dalam *Global Antimicrobial Resistance*⁷.

Terdapat beberapa faktor penyebab terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik, salah satunya adalah paparan logam berat merkuri⁸. Merkuri diketahui dapat menginduksi terjadinya kerusakan DNA, namun mekanismenya masih diperdebatkan⁹. Kerusakan DNA pada bakteri akan mengaktifkan system DNA *repair* (SOS-response) yang menyebabkan terjadinya mutasi dan memiliki kemungkinan menginduksi terjadinya resistensi¹⁰. Perbaikan dari kerusakan DNA diduga dilakukan pada fase lag. Fase lag adalah fase awal pada pertumbuhan bakteri, pada fase ini terjadi adaptasi bakteri terhadap lingkungan termasuk proses perbaikan kerusakan molekuler yang menginduksi terjadinya resistensi¹¹.

Penelitian mengenai hubungan antara paparan merkuri yang menyebabkan bakteri resisten antibiotik sebelumnya sudah dilakukan pada bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari rumah sakit Dr. Soetomo Surabaya¹². Namun pada penelitian ini akan dilakukan paparan merkuri pada bakteri *S. aureus* dari laboratorium FK Unisma. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui paparan merkuri pada terjadinya resistensi bakteri *S. aureus* terhadap beberapa antibiotik yang diamati melalui fase lag dan zona inhibisi pertumbuhan bakteri.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode *in vitro*. Dilakukan uji terhadap bakteri *S. aureus* yang dipaparkan logam berat Hg dan mengalami pemanjangan fase lag apakah menjadi resisten terhadap berbagai jenis antibiotik. Dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, Maret 2021.

Sampel Penelitian

Menggunakan sampel bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kode strain VT00324 yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi FK UNISMA dan logam berat Hg(NO₃)₂ dari FMIPA UIN Malang

Inokulasi Bakteri

Mengambil koloni bakteri dari isolasi yang kemudian dicampur dengan 2 ml *normal saline*. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi hingga menjadi suspensi lembut. Setelah itu dibandingkan dengan standart *Mc Farland* 0,5. Jika telah sesuai maka didapatkan bakteri sejumlah 10⁸CFU/ml. Dilanjutkan pengenceran 1:10 sebanyak 5 kali untuk mendapatkan sampel 10⁴ CFU/ml

Preparasi Logam Berat ke Wellplate

Disiapkan logam berat Hg dengan konsentrasi 1000 ppm sebanyak 5 ml. Selanjutnya disiapkan tabung reaksi berisi 3 ml aquabidest yang akan dicampurkan dengan 3 ml Hg yang sebelumnya telah disiapkan, kemudian dicampur dan dilakukan vortex, maka didapatkan stok logam berat dengan konsentrasi 500 ppm sebanyak 6 ml. Lalu diencerkan hingga mendapat 7 dosis bertingkat yaitu 0,05 ppm, 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,8 ppm, 3,2 ppm

Pembuatan LB 4x, MHA dan LB 1x

Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri adalah media *Lactose Broth* dan *Mueller Hinton Agar*. Media LB dibuat dengan 2 konsentrasi yaitu 13 g/L dan 52g/L. Media MHA dibuat sebanyak 1 L dengan konsentrasi 15g/L. Proses pembuatan dengan memasukan bubuk dalam *Schott bottle* lalu dipanaskan dengan *hot plate* hingga laru Setelah selesai media LB akan disimpan dalam kulkas dan media MHA didalam oven.

Proses *Plating* ke Dalam *Wellplate*

Tiap sumur *wellplate* akan diisi dengan total volume 200 ul, dibagi menjadi 4 kelompok yang terdiri dari :

- Kelompok 1, kelompok kontrol yang berisi 50 ul media dan 150 ul aquabidest dilakukan 3 kali pengulangan
- Kelompok 2, kelompok kontrol Hg berisi 50 ul media, 150 ul Hg dengan 7 dosis yang berbeda. Dilakukan 3 kali pengulangan.
- Kelompok 3, kelompok kontrol bakteri *S. aureus* berisi 50 ul media dan 150 ul bakteri *S. aureus*. Dilakukan 3 kali pengulangan.
- Kelompok 4, kelompok perlakuan berisi 50 ul media, 50 ul Hg dengan 7 dosis yang berbeda dan 100 ul bakteri, *S. aureus*.

Pengambilan Data Spektrofotometri

Pengambilan data dari *Wellplate* yang telah berisi sampel campuran Hg, bakteri *S. aureus* dan media menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 600 nm dalam menit ke 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, jam ke 2, 4, 8, 10, 12, 16, 20 dan 24.

Inokulasi Bakteri pada Media Agar

Hasil dari spektrofotometri disetarakan dengan mengambil sampel lalu dimasukan ke *effendorf* dan diberikan 1 ul LB kemudian di *vortex*. Setelah itu sampel tersebut digunakan untuk proses *streaking* pada cawan petri.

Pemberian Cakram Antibiotik

Cakram antibiotik *Amoxicillin*, *Kloramfenikol*, *Tetrasiklin*, *Meropenem* dan *Trimetropim* diletakan pada cawan petri, setelah itu diinkubasi selama 24 jam.

Pengambilan Data ZOI

Pengambilan data zona imhibisi antibiotik pada cawan petri menggunakan jangka sorong (mm). Data diambil setelah proses inkubasi 24 jam dan 48 jam. Setelah semua data didapatkan selanjutnya dilakukan uji statistik untuk menguji normalitas dan homogenitas dengan *Saphiro wilk*, jika didapatkan data yang normal dan homogen dilanjutkan dengan *Anova oneway* akan tetapi jika data tidak normal maka dilakukan uji non parametrik *Kruskal wallis*.

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

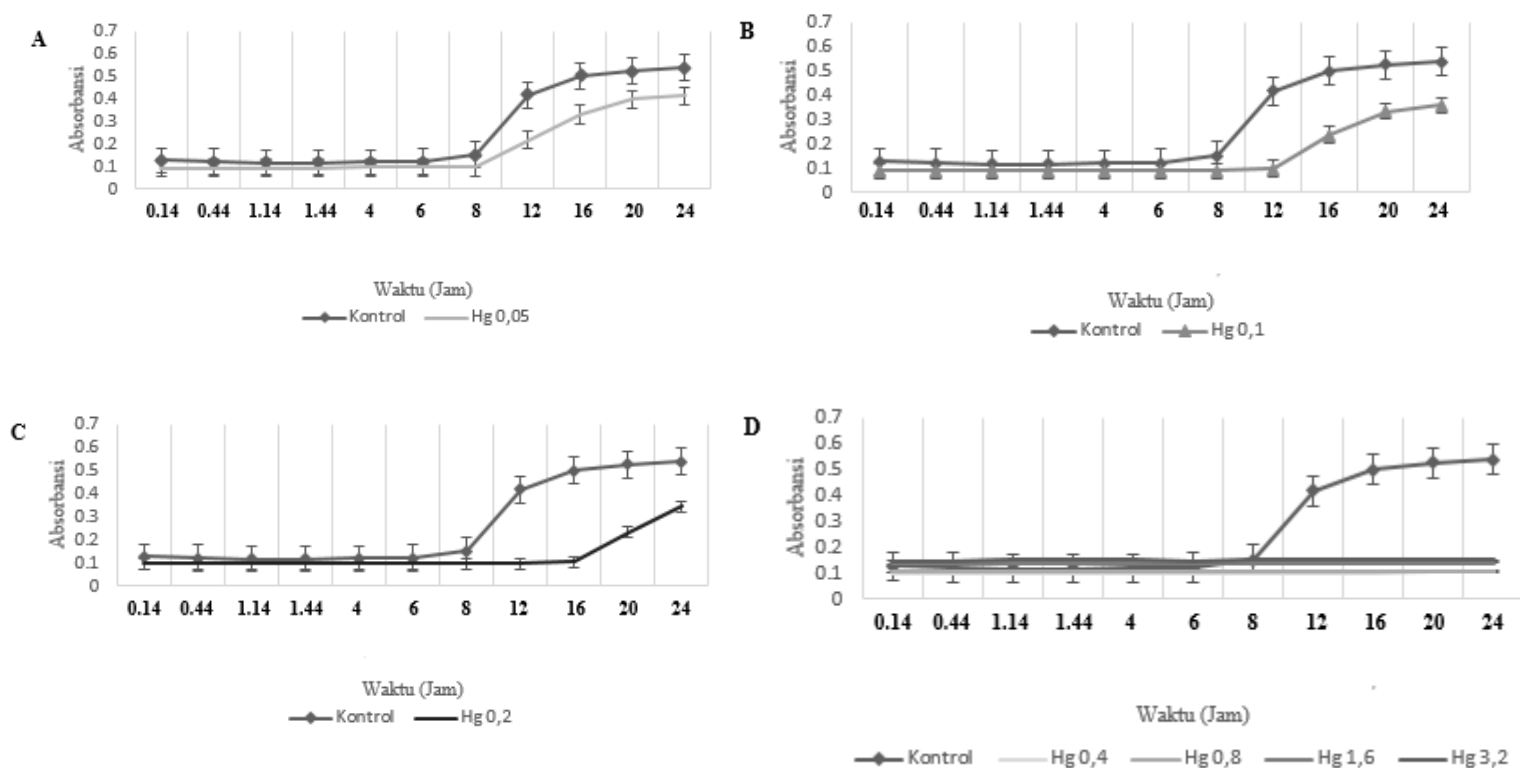
Hasil Uji Paparan Merkuri (Hg) pada Bakteri *Staphylococcus aureus*

Dibawah ini terdapat 4 kurva pertumbuhan bakteri *S. aureus* yang dipaparkan dengan logam berat merkuri (Hg) dengan 7 dosis yang berbeda, yaitu 0,05 ppm, 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,8 ppm, 1,6 ppm, dan 3,2 ppm yang dibandingkan dengan kontrol. Pada kurva pertumbuhan *S. aureus* digambarkan bakteri kontrol mengalami pertumbuhan normal yaitu terdapat fase lag, fase log dan fase stationer. Absorbansi awal bakteri kontrol sebesar 0,12 yang tidak jauh berbeda dari nilai absorbansi perlakuan. Hal ini menunjukan kondisi bakteri kontrol dan perlakuan yang relative sama pada saat dimulainya penelitian. Pada bakteri kontrol fase lag terjadinya hingga jam ke-6, lalu ke fase selanjutnya yaitu fase log dari jam ke-8 sampai jam ke-12. Setelah itu bakteri memasuki fase stationer.

Dari 7 dosis merkuri yang dipaparkan pada bakteri, terdapat 3 dosis yang mengalami pemanjangan fase lag hingga ke jam 10-18 yaitu pada dosis 0,05 ppm, 0,1 ppm, dan 0,2 ppm. Pada dosis 0,05 ppm fase lag terjadi hingga jam ke-8, masuk ke fase log jam ke-10 dan mencapai fase stationer antara jam ke 20-22. Jika dibandingkan dengan bakteri kontrol yang fase lagnya terjadi hingga jam ke-6, menunjukan adanya pemanjangan fase lag.

Pada dosis Hg 0,1 ppm fase lag terjadi sampai jam ke-12 yang menunjukan adanya pemanjangan jika dibandingkan kontrol dengan selisih 6 jam. Memasuk fase log pada jam ke-16 dan stationer jam ke-22. Pada dosis Hg 0,2 ppm fase lag terjadi hingga jam ke 16, selisih 10 jam dengan kontrol yang kemudian memasuki fase log pada jam ke-18. Hasil uji *Wilcoxon* dengan ($p\text{-value} \leq 0,05$) pada ketiga dosis Hg yang kurvanya terlihat mengalami pemanjangan fase lag tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

Sementara 4 dosis lain yang dipaparkan pada bakteri diindikasikan mengalami kematian, yaitu pada dosis 0,4 ppm, 0,8 ppm, 1,6 ppm dan 3,2 ppm. Hal tersebut dilihat dari gambaran kurva yang menunjukan tidak adanya fase pertumbuhan normal dan nilai absorbansi yang relatif tetap



Gambar 1 Kurva Pertumbuhan Perbandingan Fase Lag Bakteri Perlakuan dan Kontrol

Keterangan: A; dosis Hg 0.05 ppm B; dosis Hg 0.1 ppm C; dosis 0.2 ppm D; dosis Hg 0.4 ppm, 0.8 ppm, 1.6 ppm dan 3.2 ppm

Tabel 1 Uji Sensitivitas *S. aureus* dengan 3 kali pengulangan terhadap 5 antibiotik yang dipaparkan Hg dosis 0,05, 0,01 dan 0,05 ppm setelah inkubasi 24 jam dan 48 jam

24 jam	Amoxicillin (mm)	Kloramfenikol (mm)	Tetrasiklin (mm)	Meropenem (mm)	Trimetropim (mm)
Kontrol	38,5 ±1,6	24,1±1,1	27,5±3,6	36,1±7,3	24,1±1,1
0,05 ppm	36,8±1,8	28,6±3,6	31,9±2	37±3,1	22,6±0,7
0,1 ppm	38,4±4	32,7±8,4	32,9±,5	39,2±1	24,1±0,6
0,2 ppm	38,6±0,5	22,3±2	27,7±0,4	38,1±1,3	23,2±1,2

Tabel 2 Perhitungan lag extension (LE)

Dosis (ppm)	λc (jam)	$\lambda 0$ (jam)	LE= $\lambda c/\lambda 0$
Hg 0,05	10	6	1,6
Hg 0,1	14	6	2,3
Hg 0,2	18	6	3
Hg 0,4	24	6	4
Hg 0,8	24	6	4
Hg 1,6	24	6	4
Hg 3,2	24	6	4

Keterangan: λc Fase lag bakteri perlakuan, $\lambda 0$ Fase lag bakteri kontrol

Fase lag dikatakan terjadi ipemanjangan jika angka LE (Lag Extension) lebih dari 1¹³. Nilai LE didapatkan dari perhitungan $\lambda c/\lambda 0$ dimana λc adalah fase lag bakteri perlakuan dan $\lambda 0$ adalah fase lag bakteri kontrol. LE pada 7 dosis merkuri yang dipaparkan pada bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada tabel 2.

Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik Amoxicillin, Kloramfenikol, Tetrasiklin, Meropenem dan Trimetoprim setelah terpapar Hg

Pada tabel 1 diatas merupakan hasil pengukuran zona inhibisi *S. aureus* terhadap 5 jenis antibiotik yaitu Amoxicillin, Kloramfenikol, Tetrasiklin, Meropenem dan Trimetoprim. Hasil pengukuran zona inhibisi setelah 24 jam, pada antibiotik Amoxcilin dengan dosis 0,05 ppm yang dibandingkan dengan kontrol tidak terdapat hasil yang signifikan ($p\text{-value} \leq 0,05$), begitu juga dengan dosis 0,1 ppm dan 0,2 ppm. Hal ini diduga karena adanya efek sinergis antara antibiotik dan logam berat yang menyebabkan resistensi bakteri terhadap antibiotik melemah¹⁴.

PEMBAHASAN

Perbandingan Fase Lag *S. aureus* yang Terpapar dan Tidak Terpapar Hg

Fase lag dideskripsikan sebagai fase persiapan sebelum dimulainya pertumbuhan dan fase dimana bakteri dapat beradaptasi terhadap lingkungannya¹⁵. Dalam keadaan normal bakteri memasuki fase lag dengan menghasilkan komponen seluler, sala satunya adalah protein yang diperlukan untuk mengakumulasi biomassa dan untuk proses pembelahan¹⁵. Pada bakteri *Lactobacillus delbrueckii* disebutkan terdapat 47 protein yang dihasilkan pada saat fase lag, salah satu fungsi protein tersebut adalah untuk proses metabolisme¹⁵. Panjang fase lag dapat dipengaruhi berbagai factor seperti nutrisi dan stressor yang ada pada lingkungan, salah satunya adalah Hg¹⁶.

Adanya paparan Hg diduga dapat mengganggu sintesis protein yang berguna untuk proses uptake nutrisi pada intrasel sehingga dapat

mengganggu metabolisme. Hal tersebut akan menyebabkan bakteri kekurangan nutrisi dan beradaptasi, proses adaptasi tersebut akan menyebabkan terjadinya pemanjangan fase lag¹⁵. Adapun hal lainnya yang diduga mempengaruhi panjang fase lag adalah perubahan pH, hal tersebut terjadi pada fase lag pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* yang merupakan bakteri gram positif¹⁵.

Sesuai dengan hasil penelitian ini adanya pemanjangan fase lag pada bakteri *S. aureus* yang dipaparkan Hg pada dosis 0.05 ppm, 0.1 ppm dan 0.2 ppm mengindikasikan adanya proses adaptasi dibawah paparan Hg dan diduga mengindikasikan adanya resistensi yang akan diuji dengan pemberian cakram antibiotik dan dilakukan pengukuran zona inhibisinya.

Hg adalah logam berat non-esensial yang tidak memiliki fungsi fisiologis pada mahluk hidup¹⁷. Pada konsentrasi rendah dapat menyebabkan kematian sel, akan tetapi mekanisme toksisitas Hg pada bakteri masih diperdebatkan karena pada hasil test mutagenisitas dan genotoksitas tidak konsisten⁹. Pada sel mamalia Hg dengan konsentrasi rendah menginduksi putusnya *single-strand* DNA yang mengarah pada mutasi, akan tetapi hal tersebut tidak terjadi pada bakteri⁹. Tetapi terdapat teori mengenai mekanisme bakteri dapat bertahan hidup pada kondisi dibawah paparan merkuri dengan memperoleh gen menjadi bakteri resisten Hg¹⁸.

Bakteri resisten merkuri terjadi karena bakteri memiliki *mer* operon, adanya operon ini akan membuat bakteri mampu melakukan detoksifikasi yang akan menurunkan toksisitas logam berat¹⁷. Proses detoksifikasi oleh gen *mer* terjadi dalam sitoplasma yaitu ion merkuri Hg^{2+} direduksi oleh enzim merkuri reduktase menjadi Hg^0 yang mudah menguap pada suhu kamar dan keluar dari sel¹⁹. *Mer* operon terletak pada plasmid bakteri dan terdiri dari beberapa jenis *mer* dengan fungsi yang berbeda¹⁶. Akan tetapi mekanisme ini terjadi pada bakteri *wild-type*.

Pengaruh Pemanjangan Fase Lag *S. aureus* Akibat Paparan Merkuri Terhadap Sensitivitas Antibiotik

Hasil pengukuran zona inhibisi pada penelitian ini tidak didapatkan perubahan sensitivitas yang signifikan pada 5 jenis antibiotik yang dibandingkan dengan kontrol. Tidak didapatkannya perubahan sensitivitas antibiotik yang mengarah pada resistensi diduga karena adanya efek sinergis antibiotik dengan merkuri. Pada penelitian serupa yang dilakukan oleh Zhou et al, dikatakan jika hasil tergantung pada jenis logam berat dan antibiotik yang akan menghasilkan reaksi terhadap bakteri¹⁴. Disebutkan jika reaksi toksisitas yang berlebihan dapat

menyebabkan resistensi bakteri terhadap antibiotik melemah¹⁴. Selain jenis logam berat dan antibiotik, adanya polutan lain dapat mempengaruhi resistensi bakteri terhadap antibiotik. Penelitian Zhout et al menggunakan bakteri *P. fluorescens* ZY2 yang diisolasi dari air limbah peternakan babi, kemudian dipaparkan dengan logam berat Hg dan didapatkan hasil resistensi pada antibiotik yang signifikan¹⁴. Sedangkan pada penelitian ini bakteri yang digunakan merupakan bakteri murni yang dipaparkan dengan logam berat Hg, sehingga diduga hal ini berpengaruh pada hasil zona inhibisi yang tidak menunjukkan adanya resistensi.

Adapun mekanisme resistensi pada masing-masing antibiotik yang digunakan pada penelitian ini diantaranya yaitu pada Amoxicillin dan Meropenem, sebagai antibiotik golongan beta-laktam perubahan yang terjadi didalam plasmid bakteri akan menginduksi terjadinya perubahan pada penicillin binding protein yang berada pada dinding sel bakteri, adanya perubahan ini yang membuat bakteri dapat bertahan dari antibiotik²⁰.

Mekanisme resistensi pada Kloramfenikol dengan inaktivasi enzymatic melalui kloramfenikol transferase yang disintesis oleh plasmid²¹. Adanya enzim ini menyebabkan inaktivasi obat sehingga gagal berikatan pada ribosom bakteri, selain itu adanya mekanisme *efflux pump* yaitu gangguan pada membran sel yang dapat mempengaruhi masuknya antibiotik ke dalam sel, hal tersebut dimanfaatkan bakteri untuk memompa keluar antibiotik²⁰.

Pada mekanisme resistensi Tetrasiklin terdapat adanya gen *efflux pump* yang dapat menurunkan konsentrasi obat didalam sel bakteri, selain itu adanya proses proteksi ribosom yang menghambat kerja Tetrasiklin sehingga dapat menginduksi terjadinya resistensi²⁰. Mekanisme resistensi pada Trimetoprim dapat terjadi jika terdapat mutasi kromosom menghasilkan produksi reduktase dihidrofolat yang menyebabkan penurunan daya hambat trimethoprim pada sintesis protein bakteri.

Pada penelitian ini meskipun didapatkan hasil adanya pemanjangan fase lag pada kurva pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada 3 dosis Hg akan tetapi pada uji sensitivitasnya dengan metode pengukuran zona inhibisi setelah 24 jam tidak didapatkan hasil yang signifikan yang menunjukkan tidak adanya resistensi begitu juga pada hasil uji statistiknya dengan ($p > 0.05$). Hal ini kemungkinan karena kurangnya pengulangan yang dilakukan pada saat penelitian yang menjadi kekurangan pada penelitian ini, sehingga diharapkan pada penelitian selanjutnya dilakukan lebih banyak pengulangan.

KESIMPULAN

1. Paparan logam berat merkuri dengan dosis 0,05 ppm, 0,1 ppm dan 0,2 ppm menyebabkan terjadinya pemanjangan fase lag pada kurva pertumbuhan bakteri *S. aureus*
2. Pada bakteri dengan pemanjangan fase lag tidak terjadi penurunan sensitivitas yang signifikan terhadap 5 jenis antibiotik yang diujikan.

SARAN

1. Dilakukan pengulangan yang lebih banyak untuk melihat rasio resistensi dan toleransi pada sampel yang mengalami pemanjangan fase lag.
2. Pada penelitian menggunakan bakteri yang langsung diisolasi dari alam (*wild-type*)
3. Melihat regulasi gen yang berkaitan dengan *uptake* nutrisi pada bakteri setelah dipaparkan logam berat

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada orang tua, teman, dosen pembimbing yang membantu dalam proses penelitian ini dan Rio Risandiansyah, S.ked, MP, PhD sebagai *peer reviewer*.

DAFTAR PUSTAKA:

1. Budnik LT, Casteleyn L. Mercury pollution in modern times and its socio-medical consequences. *Sci Total Environ*. 2019;654(November 2018):720-734. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.10.408
2. Podgórska A, Puścion-Jakubik A, Grodzka A, Naliwajko SK, Markiewicz-żukowska R, Socha K. Natural and conventional cosmetics—mercury exposure assessment. *Molecules*. 2021;26(13). doi:10.3390/molecules26134088
3. Abbas HH, Sakakibara M, Sera K, Nurgahayu, Andayani E. Mercury Exposure and Health Problems of the. Published online 2020. <https://www.mdpi.com/2079-9284/7/3/58>
4. Taylor TA, Unakal CG. Staphylococcus Aureus. *Вестник Новых Медицинских Технологий Электронное Издание*. 2017;11(3):1-5.
5. Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG. Staphylococcus aureus infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev*. 2015;28(3):603-661. doi:10.1128/CMR.00134-14
6. Guo Y, Song G, Sun M, Wang J, Wang Y. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in Staphylococcus aureus. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10(March):1-11. doi:10.3389/fcimb.2020.00107
7. World Health Organization (WHO). *GLASS Report*:

- Early Implementation** 2020.; 2020. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240005587>
8. Chen S, Li X, Sun G, Zhang Y, Su J, Ye J. Heavy metal induced antibiotic resistance in bacterium LSJC7. *Int J Mol Sci.* 2015;16(10):23390-23404. doi:10.3390/ijms161023390
 9. Schurz F, Sabater-Vilar M, Fink-Gremmels J. Mutagenicity of mercury chloride and mechanisms of cellular defence: The role of metal-binding proteins. *Mutagenesis.* 2000;15(6):525-530. doi:10.1093/mutage/15.6.525
 10. Fashola MO, Ngole-Jeme VM, Babalola OO. Heavy metal pollution from gold mines: Environmental effects and bacterial strategies for resistance. *Int J Environ Res Public Health.* 2016;13(11). doi:10.3390/ijerph13111047
 11. Rolfe MD, Rice CJ, Lucchini S, et al. Lag phase is a distinct growth phase that prepares bacteria for exponential growth and involves transient metal accumulation. *J Bacteriol.* 2012;194(3):686-701. doi:10.1128/JB.06112-11
 12. Retno Kusumawati D. The Effect of Mercury Exposure to Escherichia Coli Bacteria Resistant to Mercury and Escherichia Coli Esbl in Vitro. *Int Islam Med J.* 2021;2(2):72-80. doi:10.33086/iimj.v2i2.2139
 13. Li B, Qiu Y, Shi H, Yin H. The importance of lag time extension in determining bacterial resistance to antibiotics. *Analyst.* 2016;141(10):3059-3067. doi:10.1039/c5an02649k
 14. Zhou Y, Xu Y Bin, Xu JX, Zhang XH, Xu SH, Du QP. Combined toxic effects of heavy metals and antibiotics on a Pseudomonas fluorescens strain ZY2 isolated from swine wastewater. *Int J Mol Sci.* 2015;16(2):2839-2850. doi:10.3390/ijms16022839
 15. Bertranda RL. Lag phase is a dynamic, organized, adaptive, and evolvable period that prepares bacteria for cell division. *J Bacteriol.* 2019;201(7). doi:10.1128/JB.00697-18
 16. Nanda M, Kumar V, Sharma DK. Multimetal tolerance mechanisms in bacteria: The resistance strategies acquired by bacteria that can be exploited to 'clean-up' heavy metal contaminants from water. *Aquat Toxicol.* 2019;212(April):1-10. doi:10.1016/j.aquatox.2019.04.011
 17. Bruins MR, Kapil S, Oehme FW. Microbial resistance to metals in the environment. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2000;45(3):198-207. doi:10.1006/eesa.1999.1860
 18. Boyd ES, Barkay T. The mercury resistance operon: From an origin in a geothermal environment to an efficient detoxification machine. *Front Microbiol.* 2012;3(OCT):1-13. doi:10.3389/fmicb.2012.00349
 19. Pal C, Asiani K, Arya S, et al. *Metal Resistance and Its Association With Antibiotic Resistance*. Vol 70. 1st ed. **Elsevier Ltd.**; 2017. doi:10.1016/bs.ampbs.2017.02.001
 20. Cesur S, Demiröz AP. Antibiotics and the Mechanisms of Resistance to Antibiotics. *Med J Islam World Acad Sci.* 2013;21(4):138-142. doi:10.12816/0002645
 21. Dinos GP, Athanassopoulos CM, Missiri DA, et al. Chloramphenicol derivatives as antibacterial and anticancer agents: Historic problems and current solutions. *Antibiotics.* 2016;5(2). doi:10.3390/antibiotics5020020