

Perbandingan Frekuensi Resistensi Bakteri *Bacillus subtilis* terhadap Antibiotik Tetracycline Tunggal dan Kombinasi dengan Dekokta *Hibiscus sabdariffa* L.

Nova Faisal Waber¹, Rio Risandiansyah², Hardadi Airlangga²

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

²Staf Pengajar Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

Email: novawaber@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai mendorong munculnya resistensi antibiotik. Resistensi antibiotik dapat terjadi secara spontan yang frekuensinya dapat diukur. Penggunaan kombinasi pada antibiotik memiliki tingkat resistensi yang rendah, namun kombinasi antara antibiotik dengan herbal belum diketahui. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan frekuensi resistensi bakteri *Bacillus subtilis* (sebagai model organisme) terhadap Tetracycline tunggal dengan kombinasi dekokta Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.).

Metode: Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium secara *in vitro*. Metode yang dilakukan adalah mengukur zona inhibisi yang selanjutnya digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum (KHM). Kemudian, dilakukan pengukuran frekuensi resistensi pada media agar dengan 3 kali pengulangan.

Hasil: Zona Inhibisi dari dekokta Rosella dengan konsentrasi tertinggi (100%) adalah 15 mm, sedangkan pada antibiotik Tetracycline adalah sebesar 40 mm. KHM antibiotik Tetracycline adalah 1/1024 yang setara dengan 0.0048 mg/ml dan dekokta Rosella adalah 1/16 yang setara dengan 6.25 mg/ml. Frekuensi resistensi pada Tetracycline adalah sebesar 0.69×10^{-9} sampai dengan 9.72×10^{-9} . Sedangkan, pada dekokta Rosella tidak didapatkan adanya bakteri yang resisten. Pada kombinasi antara dekokta Rosella dengan antibiotik Tetracycline juga tidak didapatkan adanya antibiotik yang resisten terhadap bakteri *B. Subtilis*.

Kesimpulan: Dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa dekokta Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dapat digunakan sebagai kombinasi dengan antibiotik untuk menurunkan resistensi bakteri *Bacillus subtilis* terhadap Tetracycline.

Kata Kunci: Resistensi, Frekuensi Resistensi, Tetracycline, Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Comparison of Bacterial Resistance Frequency of *Bacillus subtilis* to Tetracycline Antibiotics and Combination with Dekokta *Hibiscus sabdariffa* L.

Nova Faisal Waber¹, Rio Risandiansyah², Hardadi Airlangga²

¹Student in Medical Faculty, Malang Islamic University

²Faculty teaching staff, Malang Islamic University

Email: novawaber@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: The use of inappropriate antibiotics encourages the emergence of antibiotic resistance. It can be known by measuring the frequency of resistance. The use antibiotic combination has a low resistance, but the combination of antibiotic with herb is unknown. This study was conducted to prove the comparison frequency of bacterial resistance of *Bacillus subtilis* to Tetracycline and combination with dekokta Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.).

Methods: This research uses laboratory experimental method *in vitro*. The method used is to measure the zone of inhibition which is then used to determine the minimum inhibitory (KHM). Then, the measurement of resistance frequency on the media with 3 times repetition.

Results: Zone Inhibition of dekokta Rosella with the highest concentration (100%) is 15 mm, while the Tetracycline antibiotic is 40 mm. KHM Tetracycline antibiotic is 1/1024 which is equivalent to 0.0048 mg / ml and dekokta Rosella is 1/16 equivalent to 6.25 mg / ml. The frequency of resistance in Tetracycline is 0.69×10^{-9} to 9.72×10^{-9} . Meanwhile, in Rosella dekokta not found any resistant bacteria. In combination between dekokta Rosella and Tetracycline antibiotics, there was no antibiotic resistant to *B. Subtilis* bacteria.

Conclusion: From this research can be concluded that dekokta Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) can be used as a combination with antibiotics to reduce resistance frequency of *Bacillus subtilis* to Tetracycline

Keywords: Resistance, Resistance Frequency, Tetracycline, Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)

PENDAHULUAN

Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai mendorong munculnya resistensi antibiotik¹. Resistensi antibiotik merupakan salah satu masalah dunia. Di Amerika, setiap tahun lebih dari 2 juta orang mengalami resistensi terhadap antibiotik². Di Indonesia, sekitar 40-62% antibiotik digunakan secara tidak tepat³. Resistensi yang terjadi ditentukan oleh mutasi dari bakteri tersebut. Mutasi dapat terjadi salah satunya dengan cara spontan⁴. Tinggi rendahnya mutasi dapat diketahui dengan mengukur frekuensi resistensi. Frekuensi resistensi bakteri adalah jumlah bakteri mutasi yang muncul pada setiap kultur bakteri⁵.

Bakteri *Bacillus subtilis* merupakan model organisme yang digunakan pada penelitian *screening* antibiotik⁶. Bakteri ini tidak bersifat patogen pada manusia, sehingga aman untuk dilakukan pengujian di Laboratorium⁷. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Wannarat *et al.*, 2014, bakteri *Bacillus subtilis* mempunyai resistensi terhadap antibiotik tetracycline dengan pembentukan *efflux pump*⁸.

Banyaknya penggunaan obat herbal di masyarakat yang mempunyai efek antibakteri tetapi, masih belum diketahui apakah bakteri tersebut dapat resisten apabila dikombinasi dengan antibiotik. Oleh karena itu, sebaiknya dilakukan penelitian untuk mengetahui frekuensi resistensinya sehingga apabila didapatkan hasil resistensi yang rendah maka dapat digunakan sebagai patokan dalam kombinasi dengan antibiotik dan menanggulangi masalah resistensi antibiotik yang terjadi sekarang ini. Salah satu herbal yang sering dibudidayakan di daerah tropis dan digunakan dalam minuman seperti teh adalah *Hibiscus sabdariffa L.*⁹. *Hibiscus sabdariffa L.* atau bunga rosella merupakan tanaman yang mempunyai efek anti mikroba. Tanaman tersebut mengandung glikosida, saponin, flavonoid, triterpenoid dan alkaloid¹⁰. Pada suatu penelitian untuk menilai aktivitas antimikroba pada ekstrak bunga *Hibiscus sabdariffa L.*, didapatkan zona inhibisi untuk melawan bakteri *Bacillus subtilis*¹¹.

Berdasarkan hal diatas, penelitian dilakukan untuk mengetahui efek kombinasi dekokta Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) dengan antibiotik dalam menurunkan frekuensi resistensi bakteri *Bacillus subtilis* terhadap Tetracycline. Hasil yang didapatkan diharapkan dapat digunakan sebagai acuan dalam menanggulangi masalah dari bakteri *Bacillus* lainnya, seperti *Bacillus cereus* dan *Bacillus anthracis*.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu, dan Tempat Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental laboratorium secara *in vitro*. Penelitian telah dilakukan di Laboratorium

Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang pada bulan Mei-Juli 2017.

Pembuatan Dekokta Herbal

Metode dekokta herbal diawali dengan mempersiapkan simplisia *Hibiscus sabdariffa L.* sebanyak 20 gram yang diperoleh dari Balai Materia Medika Batu Malang. Pertama, simplisia di timbang menggunakan neraca dan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer. Tabung erlenmeyer tersebut kemudian diisi dengan aquades sebanyak 200 ml dan tabung dimasukkan kedalam air mendidih pada temperatur 90°C selama 30 menit. Setelah dingin air hasil dekok *Hibiscus sabdariffa L.* disaring dan ditampung ke dalam tabung ukur. Hasil yang didapatkan dioven dalam suhu 70°C selama 1 hari dan diukur berat kering. Kemudian dilarutkan kembali dengan ditambahkan aquades untuk mencapai konsentrasi 100 mg/ml atau 100.000 ppm. Hasil yang didapatkan disimpan didalam kulkas.

Kultur Bakteri

Bakteri *Bacillus subtilis* induk didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya. Bakteri tersebut ditumbuhkan pada media padat *Nutrient Agar* selama ± 18-20 jam, kemudian diinokulasikan pada media cair *Nutrient Broth* dalam inkubator pada suhu 37°C selama ± 18-20 jam.

Zona Inhibisi

Kultur bakteri yang digunakan untuk zona inhibisi adalah bakteri dengan OD₆₂₅=0.2, kemudian bakteri tersebut dicampur dengan media padat yaitu NA sebesar 1% v/v dan *diplating*. Media yang telah padat dibuat lubang sumuran sebesar ± 6 mm. Setelah itu, Tetracycline dan Rosella diencerkan dalam berbagai konsentrasi dan dimasukkan 40 µl pada tiap lubang sumuran. *Plate* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama ± 18-20 jam dan dilakukan pengukuran zona bening menggunakan mistar.

Kadar Hambat Minimum

Bakteri yang digunakan adalah bakteri dengan OD₆₂₅=0.2 yang diencerkan sebanyak 20x, kemudian masukkan 1 ml bakteri dan 1 ml tetracycline atau rosella dengan berbagai konsentrasi pada tabung reaksi serta dibuat kontrol positif dan negatifnya. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 37°C selama ± 18-20 jam dan dilakukan pengamatan kejernihan untuk mengetahui kadar hambat minimum.

Frekuensi Resistensi

Bakteri yang digunakan adalah bakteri dengan OD₆₂₅=0.2 yang diencerkan sebanyak 3 kali dalam *ependorf*. Bakteri tersebut dipisahkan masing-masing sebanyak 100µl, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama ± 18-20 jam. Bakteri yang telah diinkubasi dimasukkan ke dalam *plate* yang telah berisi media padat *Nutrient Agar* dan konsentrasi 1xKHM antibiotik, herbal, dan kombinasi antara

antibiotik dengan herbal pada masing-masing *plate*. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 37°C selama ± 18-20 jam dengan 3 kali pengulangan dan dilakukan pengamatan untuk mengetahui ada tidaknya bakteri yang resisten.

Perhitungan Bakteri pada Media Non Selektif

Bakteri pada media non selektif susah untuk dihitung karena menyerupai *lawn*. Bakteri kemudian diukur menggunakan spektrofotometer dan dikalikan dengan standar perhitungan bakteri bahwa 0,1 pada OD₆₀₀=10⁸ cfu/ml.

Perhitungan Frekuensi Resistensi

Frekuensi resistensi didefinisikan sebagai jumlah bakteri resisten dibandingkan jumlah bakteri non resisten. Untuk menghitung frekuensi resistensi maka digunakan rumus sebagai berikut.

$$f = \frac{N_r}{N_o}$$

Keterangan : *f*: Frekuensi Resistensi; *N_r*: Jumlah bakteri resisten; *N_o*: Jumlah bakteri non resisten⁵.

HASIL PENELITIAN

Hasil Zona Inhibisi

Hasil zona inhibisi dekotta Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) dan antibiotik Tetracycline terhadap bakteri *Bacillus subtilis* yang dilakukan dalam berbagai konsentrasi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Zona Inhibisi.

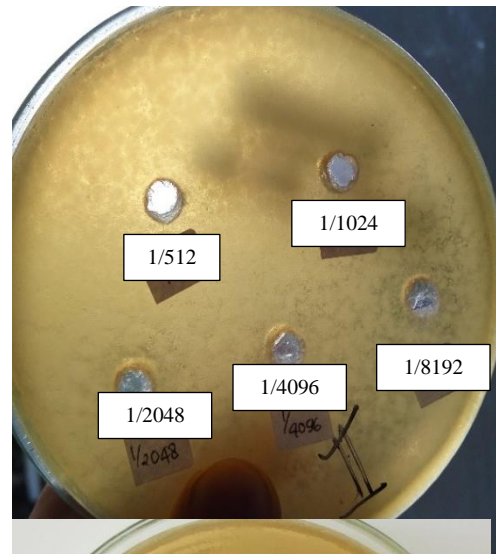
No	Konsentrasi	Tetracycline 5 mg/ml (mm)	Rosella 100 mg/ml (mm)
1	1	40	15
2	1/2	30	8
3	1/4	30	<6
4	1/8	26	<6
5	1/16	26	<6
6	1/32	26	<6
7	1/64	20	<6
8	1/128	14	<6
9	1/256	14	<6
10	1/512	12	<6
11	1/1024	<6	Tdk dilakukan
12	1/2048	<6	Tdk dilakukan
13	1/4096	<6	Tdk dilakukan

*Ket: 10-20mm: daya hambat kuat; 6-10mm: daya hambat sedang; <6mm: daya hambat lemah.

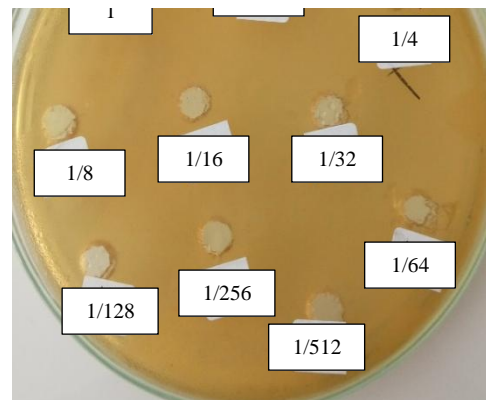
14	1/8192	<6	Tdk dilakukan
----	--------	----	---------------

Berdasarkan data tabel diatas, hasil yang didapatkan adalah Zona Inhibisi dari dekotta Rosella dengan konsentrasi tertinggi (100%) adalah 15 mm, sedangkan pada antibiotik Tetracycline adalah sebesar 40 mm. Zona Inhibisi hilang (<5mm) pada konsentrasi dekotta Rosella ke 1/4 dilusi atau setara dengan 25 mg/ml. Namun, pada antibiotik Tetracycline zona inhibisi hilang pada dilusi ke 1/1024 atau setara dengan 0.0048 mg/ml. Gambar hasil Zona Inhibisi dapat dilihat pada gambar 1 berikut.

A
B

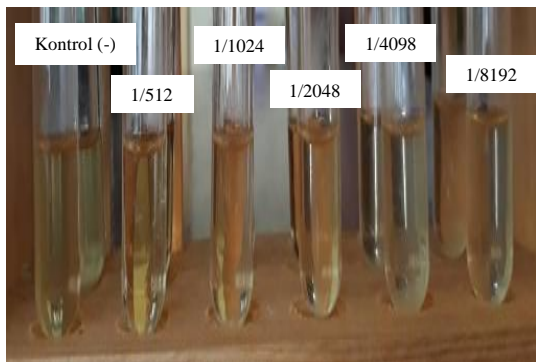


Gambar 1. Hasil Zona Inhibisi. A: Uji Zona Inhibisi antibiotik Tetracycline; B: Uji Zona Inhibisi Dekotta Rosella.

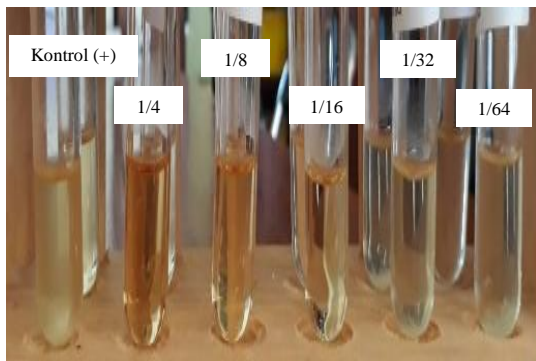


Hasil Kadar Hambat Minimum (KHM)

Hasil Kadar Hambat Minimum dekotta Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) dan antibiotik Tetracycline terhadap bakteri *B. subtilis* yang dilakukan dalam berbagai konsentrasi dapat dilihat pada gambar 2 dan hasil gambar dirangkum dalam tabel 2.



A



B

Gambar 2. Hasil Kadar Hambat Minimum. A: Uji Kadar Hambat Minimum antibiotik Tetracycline; B: Uji Kadar Hambat Minimum Dekokta Rosella.

Berdasarkan data gambar diatas, didapatkan kadar hambat minimum antibiotik Tetracycline terhadap bakteri *Bacillus subtilis* adalah 1/1024 yang setara dengan 0.0048 mg/ml dan dekokta Rosella terhadap bakteri *Bacillus subtilis* adalah 1/16 yang setara dengan 6.25 mg/ml. Hal tersebut telah dirangkum dalam tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Kadar Hambat Minimum.

N o	Konsentr asi	Tetracycline 5 mg/ml	Konsen trasi	Rosella 100 mg/ml
1	Kontrol positif	+		
2	Kontrol negatif	-		
3	1/512	-	1/4	-
4	1/1024	-	1/8	-
5	1/2048	+	1/16	-
6	1/4096	+	1/32	+
7	1/8192	+	1/64	+

Hasil Frekuensi Resistensi

Hasil penelitian mengenai Frekuensi Resistensi bakteri *B. subtilis* terhadap antibiotik Tetracycline, dan dekokta Rosella dengan antibiotik Tetracycline

Tabel 3. Hasil Frekuensi Mutasi.

Ket	Juml ah N _t	Jumlah N _o (Non Selektif)	Frekuensi Resistensi	Rata-Rata Frekuensi Resistensi
R1	0	1.44 x 10 ⁹	0 (zero resistance)	0 (zero resistance)
R2	0	1.44 x 10 ⁹	0 (zero resistance)	
R3	0	1.44 x 10 ⁹	0 (zero resistance)	
T1	5	1.44 x 10 ⁹	3.47 x 10 ⁻⁹	4.62 x 10 ⁻⁹
T2	1	1.44 x 10 ⁹	0.69 x 10 ⁻⁹	
T3	14	1.44 x 10 ⁹	9.72 x 10 ⁻⁹	
T- R1	0	1.37 x 10 ¹⁰	0 (zero resistance)	0 (zero resistance)
T- R2	0	1.37 x 10 ¹⁰	0 (zero resistance)	
T- R3	0	1.37 x 10 ¹⁰	0 (zero resistance)	

Berdasarkan tabel diatas, pada Tetracycline didapatkan hasil Frekuensi Resistensi sebesar 0.69 x 10⁻⁹ sampai dengan 9.72 x 10⁻⁹. Sedangkan, pada dekokta Rosella tidak didapatkan adanya bakteri yang resisten. Pada kombinasi antara dekokta Rosella dengan antibiotik Tetracycline juga tidak didapatkan adanya antibiotik yang resisten terhadap bakteri *B. Subtilis*.

PEMBAHASAN

Perbandingan Zona Inhibisi pada Bakteri *Bacillus subtilis* terhadap Tetracycline dengan Dekokta Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*)

Hasil Zona Inhibisi didapatkan pada antibiotik Tetracycline dan dekokta Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) memiliki daya yang kuat untuk

menghambat pertumbuhan bakteri. Zona inhibisi dikatakan memiliki daya hambat kuat apabila memiliki diameter zona bening sebesar 10-20 mm.

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan Dodgen, 2008 didapatkan pada Tetracycline zona inhibisi terhadap bakteri *E. Coli* adalah >20 mm, hal tersebut menunjukkan bahwa tetracycline memiliki daya hambat yang kuat untuk membunuh bakteri¹². Pada Rosella telah dilakukan penelitian oleh Prabhakaran *et al*, 2016 terhadap ekstrak etanol kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap bakteri *Bacillus subtilis*. Dari penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kelopak Rosella memiliki daya hambat yang kuat untuk membunuh bakteri¹¹.

Zona inhibisi antibiotik Tetracycline hilang (<6mm) pada dilusi ke 1/1024 atau pada 10x pengenceran, sedangkan pada dekokta Rosella zona inhibisi hilang (<6mm) pada dilusi 1/4 atau pada 2x pengenceran. Hal tersebut menunjukkan bahwa dibutuhkan pengenceran yang lebih banyak pada Tetracycline dibandingkan dengan dekokta Rosella karena daya hambat yang dimiliki oleh Tetracycline lebih kuat untuk melawan bakteri *Bacillus subtilis*.

Perbandingan Kadar Hambat Minimum (KHM) pada Bakteri *Bacillus subtilis* terhadap Tetracycline dengan Dekokta Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Kadar Hambat Minimum bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimal dari suatu bahan yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Kadar Hambat Minimum dapat dilihat secara makrodilusi pada kejernihan larutan. Pada Tetracycline didapatkan kadar hambat minimum antibiotik Tetracycline terhadap bakteri *Bacillus subtilis* adalah 1/1024 yang setara dengan 0.0048 mg/ml atau 4.8 µg/ml. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Soleha, 2015 kadar hambat minimum antibiotik tetracycline adalah ≤ 4 µg/ml¹³.

Pada dekokta Rosella didapatkan kadar hambat minimum terhadap bakteri *Bacillus subtilis* adalah 1/16 yang setara dengan 6.25 mg/ml. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Soleha, 2015 bahwa Zona inhibisi berbanding terbalik dengan Kadar Hambat Minimum¹³. Hasil KHM yang didapatkan pada dekokta Rosella lebih besar dari antibiotik Tetracycline. Hal ini menunjukkan bahwa kekuatan untuk menghambat bakteri lebih besar pada antibiotik Tetracycline dibandingkan dengan dekokta Rosella karena dibutuhkan konsentrasi yang lebih kecil untuk membunuh bakteri pada jumlah yang sama. Rosella memiliki potensi yang lemah dibandingkan Tetracycline kemungkinan dapat disebabkan oleh banyaknya senyawa yang terkandung dalam Rosella. Senyawa tersebut yaitu glikosida, saponin, flavonoid, triterpenoid, dan alkaloid¹⁰.

Perbandingan Frekuensi Resistensi Bakteri *Bacillus subtilis* terhadap Tetracycline dan Kombinasi Dekokta Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan Tetracycline

Pada antibiotik Tetracycline dengan konsentrasi 1xKHM terhadap bakteri *Bacillus subtilis* secara spontan didapatkan adanya bakteri yang mengalami resistensi. Pada Tetracycline didapatkan hasil Frekuensi Resistensi sebesar 0.69×10^{-9} sampai dengan 9.72×10^{-9} . Menurut penelitian yang dilakukan oleh Levin *et al*, 1997 resistensi dikatakan rendah apabila hasil yang didapatkan 10^{-8} atau dibawahnya sehingga menurut hasil yang didapatkan tetracycline mengalami frekuensi resistensi yang tergolong rendah¹⁴. Antibiotik ini bekerja dengan cara menghambat sintesis protein bakteri dengan berikatan pada rantai 30S RNA yang berada di ribosom¹⁵. Rendahnya resistensi yang terjadi dapat diakibatkan oleh target antibiotik yaitu ribosom yang susah untuk mengalami mutasi (*highly conserved*) karena proses penting yang terjadi di ribosom yaitu proses sintesis protein. Mekanisme resistensi yang terjadi pada *Bacillus subtilis* terhadap tetracycline adalah *efflux pump*¹⁶. Mekanisme ini mengeluarkan pompa tetA yang bersifat spesifik sehingga bakteri tersebut susah untuk mengalami resistensi atau mempunyai nilai resistensi yang rendah¹⁷.

Pada penelitian ini, pada dekokta Rosella dengan konsentrasi 1xKHM terhadap bakteri *Bacillus subtilis* secara spontan tidak didapatkan adanya bakteri yang mengalami resistensi. Hal ini dapat disebabkan oleh banyaknya senyawa yang terkandung, yaitu glikosida, saponin, flavonoid, triterpenoid, dan alkaloid¹⁰. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel, dan merusak permeabilitas membran bakteri. Flavonoid bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri¹⁸. Triterpenoid bekerja dengan cara melunakkan membran sel bakteri sehingga mengakibatkan hancurnya dinding sel bakteri¹⁹. Alkaloid bekerja dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri²⁰. Dari penjelasan diatas diketahui bahwa Rosella memiliki berbagai mekanisme untuk membunuh bakteri. Kondisi seperti ini yang dimungkinkan dapat menyebabkan bakteri lebih sulit untuk mengalami resistensi, karena bakteri harus mempunyai satu mekanisme resistensi seperti mekanisme *efflux pump*, modifikasi target, dan lain sebagainya sehingga susah untuk mengalami resistensi apabila bekerja bersamaan untuk mengeluarkan bakteri tersebut².

Pada kombinasi dekokta Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap antibiotik Tetracycline dengan konsentrasi masing-masing 1xKHM secara spontan, tidak didapatkan adanya bakteri yang mengalami resistensi. Pada kombinasi dekokta Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap antibiotik Tetracycline dengan konsentrasi masing-masing

1xKHM secara spontan, tidak didapatkan adanya bakteri yang mengalami resistensi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Al-Alak *et al.*, 2016 bahwa pemberian herbal yaitu ekstrak *Hibiscus rosasinensis* dengan antibiotik Amoxicilin mempunyai efek yang lebih baik dalam melawan beberapa patogen pada manusia. Penelitian tersebut menjelaskan bahwa ekstrak *Hibiscus rosasinensis* mempunyai efek sebagai *efflux pump inhibitor* (EPI) sehingga menekan proses resistensi yang terjadi akibat pemakaian antibiotik²¹. Hasil yang didapatkan pada kombinasi ini kemungkinan disebabkan oleh adanya kandungan pada dekokta Rosella yang memiliki efek sebagai *efflux pump inhibitor* (EPI) sehingga menghambat proses resistensi yang terjadi pada bakteri *Bacillus subtilis* terhadap tetracycline.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa dekokta Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) dapat digunakan sebagai kombinasi dengan antibiotik untuk menurunkan resistensi bakteri *Bacillus subtilis* terhadap Tetracycline.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, peneliti menyarankan beberapa hal berikut ini guna mengembangkan dan memajukan ilmu pengetahuan:

1. Pada pengukuran Kadar Hambat Minimum sebaiknya menggunakan spektrofotometer untuk mengurangi subjektivitas hasil dan mendapatkan angka untuk menjadi batas antara hasil jernih dan keruh.
2. Dibutuhkan penelitian lanjutan untuk mengetahui senyawa aktif dari Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) Sebagai EPI (*Efflux Pump Inhibitor*).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Civitas Akademika Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, dosen pembimbing, dosen penguji, staff laboran dan segenap tim pohon penelitian yang telah berkontribusi dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abimbola, I. O. Knowledge and practices in the use of antibiotics among a group of Nigerian university students. *International Journal of Infection Control*. 9 (7), 1-8.
2. Al-Alak, J. M., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., Piddock, L. J. V. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Publ Gr [Internet]*. 2014;13(1):42–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro3380>
3. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Masalah Kebal Obat Masalah Dunia. 2011. Diakses di <http://www.depkes.go.id/development/site/jkn/index.php?cid=1459&id=masalah-kebal-obat-masalah-dunia-.html>
4. Najafi MBH, Pezeshki P. BACTERIAL MUTATION ; TYPES , MECHANISMS AND MUTANT DETECTION METHODS : A REVIEW Mohammad B . Habibi Najafi. 2013;4(December):628–38.
5. Pope CF, Sullivan DMO, Mchugh TD, Gillespie SH. MINIREVIEW A Practical Guide to Measuring Mutation Rates in Antibiotic Resistance. 2008;52(4):1209–14.
6. Michna RH, Zhu B. SubtiWiki 2 . 0 — an integrated database for the model organism *Bacillus subtilis*. 2016;44(October 2015):654–62.
7. Earl, A. M., Losick, R., & Kolter, R. *Bacillus subtilis* Genome Diversity. *Genome Biology*, 8(3), 1163–1170. <https://doi.org/10.1128/JB.01343-06>. (2007).
8. Wannarat, W., Motoyama, S., Masuda, K., Kawamura, F., & Inaoka, T. (2014). Tetracycline tolerance mediated by gene amplification in *Bacillus subtilis*. *Microbiology (United Kingdom)*, 160(2014), 2474–2480. <https://doi.org/10.1099/mic.0.081505-0>
9. Soto ME, Zuñiga-muñoz A, Lans VG, Duran-hernández EJ, Pérez-torres I. Infusion of *Hibiscus sabdariffa L.* Modulates Oxidative Stress in Patients with Marfan Syndrome. 2016;2016.
10. Hayati, Z., Yulia, W., & Karmil, T. F. Antibacterial activity of rosella flowers extract (*Hibiscus sabdariffa linn*) in inhibiting bacterial growth methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, 2012. 2(1), 22–24.
11. Prabhakaran D, Rajeshkanna A, Senthamilselvi M., Sabdariffa H, Activity A, Activity A, Method D. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 2016 ISSN NO: 2231-6876. 2016;6(5).
12. Dodgen T. *E. Coli* Antibiotic Resistance. 2008;1–34.
13. Soleha TU. Uji Kepekaan terhadap Antibiotik Susceptibility Test of Antimicroba. 2015;3–7.
14. Levin BR, Lipsitch M, Perrot V, Schrag S, Antia R. The Population Genetics of Antibiotic Resistance. 1997;
15. Adesoji AT, Ogunjobi AA, Olatoye IO, Douglas DR. Prevalence of tetracycline resistance genes among multi-drug resistant bacteria from selected water distribution systems in southwestern Nigeria. *Ann Clin*

- Microbiol Antimicrob [Internet]. 2015;1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12941-015-0093-1>
16. Katzung, Bertram G., et al. Basic and Clinical Pharmacology. McGraw-Hill Inc. dr Brahm U. Pendit (penterjemah) 2014. Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi 12. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta. 2012. Volume 2.
 17. Kumar S, Varela MF. Molecular mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. 2013;522–34.
 18. Redha A. Flavonoid : Struktur , Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. 2010;196–202.
 19. Widiyati, E. (2006). Penentuan Adanya Senyawa Triterpenoid Dan Uji Aktivitas Biologis Pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu, 2(1), 116–122.
 20. Akmal, I. 2011. *Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Meniran (Phyllanthus niruri L.) terhadap Staphylococcus aureus yang Diisolasi dari Sputum Penderita Batuk Kronis*. Bagian Kesehatan Masyarakat Fakultas Kedokteran Unsyiah. Banda Aceh. 4-15.
 21. Al-Alak SK, Al-Oqaili RM, Mohammed BB, Abd-Alkhalik N., Sabdariffa H, Activity A, Activity A, Method D. Indo American Journal of Pharmaceutical Research, 2016 ISSN NO: 2231-6876. 2016;6(5).