

Research Article

Aktivitas Anti Oksidan dan Daya Hambat Ekstrak Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA)

Antioxidant and inhibitory activity of Roselle Extract (*Hibiscus sabdariffa* L.) against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Nurul Fikriyah¹, Isnaeni^{*}, Asri Darmawat¹

¹Departemen Ilmu Kefarmasian, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga,
Gedung Nanizar Zaman Joenoes, Kampus C Unair
Jl. Mulyorejo, Surabaya 60115, Indonesia

^{*}Corresponding author E-mail: isnaeni@ff.unair.ac.id

Article History

Received: 12 juli 2020; Received in Revision: 23 Agustush 2020; Accepted: 1 Oktobr 2020

ABSTRACT

Background: *Hibiscus sabdariffa* known as roselle, which belongs to the family Malvaceae, grows in sub-tropical and tropical region including Indonesia. Several studies have reported the benefits of roselle for health. Roselle extract has been shown to have antibacterial effect as a support for antibacterial therapy, especially for case of antibiotic resistance, and antioxidant effect which can neutralize free radicals. Purpose: The aim of this study was obtaining the minimum inhibitory concentration (MIC) and inhibition concentration (IC50) of roselle extract. Methods: Antibacterial effect of roselle extract against *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) was tested in nutrient agar media using diffusion method. Antioxidant activity of roselle extract was performed by DPPH. The violet color of DPPH solutions that was reduced by roselle extract were measured using visible spectrophotometer at the wavelength of 516 nm. Result: The result of this study obtained the (MIC) and IC50 of roselle extract were 2,5% and 1251±202,32 ppm, respectively. Conclusion: It can be concluded that roselle extract have antibacterial effect against MRSA and antioxidant effect.

Keywords : roselle extract , antibacterial, good health and well-being, antioxidant, *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*

ABSTRAK

Latar Belakang: *Hibiscus sabdariffa* atau lebih dikenal dengan sebutan rosela, termasuk famili Malvaceae, banyak ditemukan di daerah sub-tropis hingga tropis termasuk Indonesia. Beberapa penelitian telah melaporkan manfaat yang dimiliki rosela untuk kesehatan. Ekstrak rosela terbukti memiliki efek antibakteri yang dimanfaatkan sebagai terapi pendukung untuk terapi antibakteri khususnya pada kasus resistensi dan efek antioksidan yang bermanfaat untuk menetralkan radikal bebas. Tujuan: Penelitian ini bertujuan menentukan nilai konsentrasi hambat minimal (KHM) dan IC50 ekstrak bunga rosela. Metode: Uji efek antibakteri ekstrak bunga rosela terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dilakukan dalam media nutrient agar menggunakan metode difusi-sumuran. Uji efek antioksidan ekstrak bunga rosela dilakukan menggunakan metode uji DPPH. Warna violet DPPH yang tereduksi oleh ekstrak diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm. Hasil: Nilai KHM dan IC50 ekstrak adalah 2,5% dan 1251±202,32 ppm. Kesimpulan: berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak bunga rosela memiliki efek antibakteri terhadap MRSA dan efek antioksidan.

Kata kunci: ekstrak bunga rosela, antibakteri, kesehatan dan kesejahteraan, antioksidan, *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Pendahuluan

Indonesia adalah negara yang dikenal dengan kekayaan floranya yang sangat beragam. Keanekaragaman ini tidak hanya dimanfaatkan untuk kebutuhan pangan namun juga sebagai obat tradisional. Menurut pernyataan WHO, sebanyak 65% penduduk di negara maju dan 80% penduduk di negara berkembang telah menggunakan obat herbal. Hal inilah yang menjadikan penelitian terkait tanaman obat, perkembangan obat tradisional baru serta isolasi senyawa aktif dalam tanaman obat terus berkembang. Di Indonesia terdapat lebih dari puluhan ribu jenis tanaman dengan berbagai spesies yang tersebar di berbagai daerah dan 7000 diantaranya merupakan tanaman yang memiliki khasiat obat (Jumiarni and Komalasari, 2017). Salah satu dari berbagai tanaman berkhasiat obat tersebut adalah Hibiscus sabdariffa atau Rosela, yang merupakan salah satu tanaman dari keluarga kapas-kapasan atau Malvaceae (Masnadi, 2019). Tanaman Rosela dapat ditemukan di berbagai daerah tropis atau sub-tropis seperti Indonesia, Malaysia, India, dan lain-lain (Dhar et al., 2015). Habitat asli tanaman ini berasal dari Nigeria, tetapi tumbuh berkembang di seluruh dunia, terutama daerah tropis. Sejak 2013, terdapat empat varietas unggul rosela yang telah disetujui oleh Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat (BALITTAS) antara lain Roselindo 1 (Rosela Merah), Roselindo 2 (Jamaika/ Rosela Ungu Cumi), Roselindo 3 (Rosela Hijau), Roselindo 4 (Rosela Ungu biasa) (Murianingrum, 2013). Perbedaan warna pada tiap varietas dipengaruhi oleh kandungan senyawa antosianin. Merah gelap atau ungu memiliki kadar antosianin tertinggi diikuti oleh warna merah, sedangkan warna hijau memiliki kadar antosianin yang sangat rendah (Hussein et al., 2010). Roselindo 2 dinilai sebagai varietas rosela yang memiliki kadar antosianin tertinggi dibandingkan varietas lain (Budi et al., 2018).

Seluruh bagian tanaman rosela mulai dari daun, buah, biji, batang, akar, dan utamanya kelopak bunga telah diketahui memiliki banyak manfaat (Nurnasari and Khuluq, 2018). Salah satu yang paling dikenal adalah aktivitas antibakteri. Rosela telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri uji, salah satunya adalah Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA). MRSA adalah kelompok *S. aureus* yang resisten terhadap antibiotik methicillin dan antibiotik golongan β -laktam (Darna, Turnip and Rahmawati, 2018). Kejadian infeksi MRSA terus meningkat. Prevalensi kasus infeksi MRSA di Indonesia mencapai 23,5%

pada tahun 2006 (Sulistiyaningsih, 2010). Ekstrak air rosela telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang efektif terhadap MRSA dengan nilai konsentrasi hambat minimal (KHM) sebesar 2,5% (Ramadiansyah, 2016).

Beberapa golongan senyawa yang berperan dalam aktivitas biologi ekstrak bunga rosela adalah alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin (Pacôme et al., 2014). Senyawa alkaloid yang mengandung gugus-gugus basa dapat bereaksi dengan asam-asam amino penyusun dinding sel bakteri serta DNA bakteri sehingga dapat merubah struktur dan susunan asam amino serta DNA tersebut yang akan mengakibatkan perubahan keseimbangan genetik (Darsana, Besung and Mahatmi, 2012). Kandungan flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme yang dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi. Saponin dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran serta menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel (Madduluri, Rao and B.Sitaram, 2013). Sedangkan tanin mampu menghambat proliferasi sel bakteri dengan menghambat enzim yang digunakan untuk metabolisme oleh sel bakteri. Tanin juga mengganggu polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel bakteri menjadi kurang sempurna.

Selain berfungsi sebagai antibakteri, rosela juga memiliki beberapa aktivitas biologi lainnya, salah satunya adalah antioksidan. Antioksidan adalah suatu senyawa baik sintetik maupun alami yang dapat mencegah atau menunda beberapa jenis kerusakan sel melalui mekanisme pencegahan terjadinya oksidasi (Sayuti and Yerrina, 2015). Antioksidan membantu mengatasi atau mencegah terjadinya stress oksidatif akibat adanya radikal bebas berlebih di dalam tubuh. Adanya zat antioksidan dalam rosela dapat menetralkan radikal bebas. Senyawa yang sering dikaitkan dengan aktivitas antioksidan rosela adalah antosianin dan vitamin C. Sumber vitamin C dapat ditemui pada buah dan sayur serta beberapa tanaman lain termasuk rosela. Dalam 100 g kelopak bunga rosela segar terdapat 6,7 mg asam askorbat (Mahadevan and Kamboj, 2009). Salah satu penelitian yang dilakukan oleh Simanjuntak (2019) menunjukkan bahwa ekstrak air kelopak rosela memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 terhadap radikal bebas DPPH sebesar 476 ppm (Simanjuntak, 2019).

Penelitian ini bertujuan menentukan nilai konsentrasi hambat minimal (KHM) ekstrak bunga rosela, menggunakan bakteri uji MRSA

dan Uji efek antioksidan ekstrak bunga rosela menggunakan metode uji DPPH.

Bahan dan Metode

Bahan

Ekstrak etanol-air (kering) bunga rosela, didapatkan dari salah satu industri farmasi. Vankomisin, metanol p. a. (Merck), *nutrient agar* (Oxoid), NaCl p.a. (Merck), DPPH p. a., air suling, MRSA 113749 diperoleh dalam bentuk *isolate stock* dari *Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga.

Cara kerja

Pemeriksaan kualitatif ekstrak bunga rosela

Pemeriksaan kualitatif ekstrak bunga rosela meliputi uji organoleptis secara visual mengenai bentuk, warna, bau; dan pemeriksaan nilai pH menggunakan pH-meter.

Pengamatan efek antibakteri ekstrak bunga rosela

Penetapan KHM ekstrak bunga rosela dilakukan menggunakan metode difusi-sumuran menggunakan media *nutrient agar*.

Pembuatan media *nutrient agar*

Ditimbang serbuk agar nutrient sebanyak 28 g dan dilarutkan dalam 1 L air suling sambil dipanaskan hingga serbuk agar nutrient melarut sempurna. Media kemudian diisikan ke dalam beberapa tabung reaksi dengan sebagian volume ± 15 ml untuk *base layer*, sebagian volume ± 10 ml untuk *seed layer*, dan agar miring untuk peremajaan bakteri. Media disterilkan dengan otoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit (Bridson, 2006).

Pembuatan inokulum MRSA

MRSA diambil dari *isolate stock* dan dibiakkan dalam media NA selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil biakan dibuat suspensi dengan larutan NaCl 0,9% steril. Transmittan suspensi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 580 nm menggunakan blanko larutan NaCl 0,9% (dilakukan pengenceran bila diperlukan) hingga diperoleh transmittan sebesar 25%.

Pembuatan dan pengenceran larutan uji antibakteri

Ditimbang ekstrak bunga rosela sebanyak 1 gram dan dilarutkan dalam air suling hingga mencapai volume 10 ml (konsentrasi larutan 10%). Lalu larutan ekstrak 10% dipipet 5 ml dan ditambahkan air suling hingga mencapai volume 10 ml (konsentrasi 5%). Lalu larutan ekstrak 5% dipipet 5 ml dan ditambahkan air suling hingga

mencapai volume 10 ml (konsentrasi 2,5%). Lalu larutan ekstrak 2,5% dipipet 5 ml dan ditambahkan air suling hingga mencapai volume 10 ml (konsentrasi 1,25%). Lalu larutan ekstrak 1,25% dipipet 5 ml dan ditambahkan air suling hingga mencapai volume 10 ml (konsentrasi 0,625%).

Penetapan KHM ekstrak bunga rosela

Media NA sebanyak ± 15 ml (45 – 50 °C) dituang ke dalam cawan petri (\varnothing 20 cm) secara aseptik lalu diamkan hingga memadat (*base layer*). Kemudian diambil 8 μ l inokulum MRSA dan dimasukkan dalam ± 10 ml media agar nutrien (45 – 50 °C), di vortex, lalu dituang ke dalam *base layer* dan diamkan hingga memadat (*seed layer*). Media yang terbentuk dilubangi menggunakan pencetak lubang steril sebanyak 18 lubang (3 untuk kontrol positif dan 15 untuk sampel). Kontrol positif yang digunakan adalah vankomisin. Sampel dan kontrol positif kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing lubang lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama ± 24 jam. Dilakukan pengamatan terhadap diameter zona hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong. Konsentrasi terkecil yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji ditetapkan sebagai KHM (Isnaeni, Hendradi and Zettira, 2020).

Pengamatan efek antioksidan ekstrak bunga rosela

Pengamatan terhadap efek antioksidan dilakukan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH dan dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada $\lambda = 516$ nm (Simanjuntak, 2019).

Pembuatan larutan DPPH

Ditimbang DPPH sebanyak 5 mg lalu dilarutkan dalam metanol hingga volume mencapai 25,0 ml (konsentrasi larutan induk DPPH 200 ppm). Kemudian dipipet 5 ml dan ditambahkan metanol hingga volume mencapai 25,0 ml (konsentrasi larutan DPPH 40 ppm).

Pembuatan dan pengenceran larutan uji antioksidan

Ditimbang ekstrak bunga rosela sebanyak 1 gram dan dilarutkan dalam air suling hingga mencapai volume 100 ml (konsentrasi larutan 10000 ppm). Lalu larutan dipipet 0,5 ml; 1,0 ml; 1,5 ml; 2 ml; dan 2,5 ml kemudian ditambahkan air suling hingga volume mencapai 25 ml sehingga didapatkan pengenceran terhadap larutan tersebut dengan seri konsentrasi 200, 400, 600, 800, dan 1000 ppm.

Uji DPPH dan penentuan nilai IC₅₀

Pengamatan efek antioksidan diawali dengan pengujian larutan DPPH sebagai kontrol negatif. Dipipet 4 ml larutan DPPH, disimpan selama ±30 menit pada ruangan gelap lalu diamati absorbansinya. Selanjutnya adalah uji efek antioksidan ekstrak bunga rosela dalam berbagai konsentrasi. Dipipet 0,5 ml larutan ekstrak bunga rosela (200, 400, 600, 800, 1000 ppm), ditambahkan 3,5 ml larutan DPPH lalu dikocok. Campuran larutan disimpan selama 30 menit pada ruangan gelap lalu diamati absorbansinya. Hasil pengamatan dinyatakan dalam persentase inhibisi menggunakan rumus:

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs uji}}{\text{Abs kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan: Abs = absorbansi

Setelah perhitungan %inhibisi, dilakukan penentuan persamaan regresi linier dengan x adalah konsentrasi dan y adalah %inhibisi. Setelah didapatkan persamaan regresi, dimasukkan nilai y = 50 yang menunjukkan kondisi inhibisi terhadap 50% DPPH. Nilai x yang didapatkan adalah konsentrasi larutan ekstrak bunga rosela yang dapat meredam 50% dari total DPPH (IC₅₀).

Hasil dan Pembahasan

Dari hasil pemeriksaan kualitatif ekstrak bunga rosela didapatkan bentuk serbuk dengan warna coklat kemerahan dan tidak berbau (Tabel I) serta nilai pH rata-rata ekstrak sebesar 2,43±0,02 (Tabel II). Hasil ini mendekati pustaka yang merupakan penelitian sebelumnya, yakni 2,537±0,004 (Isnaeni, Hendradi and Zettira, 2020). Nilai pH yang rendah ini menunjukkan ekstrak air rosela memiliki tingkat keasaman yang cukup tinggi karena diketahui terdapat banyak kandungan asam organik di dalamnya. Kandungan asam-asam organik ini juga memiliki peran terhadap aktivitas antibakteri rosela (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

Tabel I. Hasil pemeriksaan organoleptis

No	Pengamatan	Hasil
1	Bentuk	Serbuk
2	Warna	Coklat kemerahan
3	Bau	Tidak berbau

Tabel II. Hasil pemeriksaan pH

No	Penimbangan (mg)	Konsentrasi (mg/ml)	pH terukur
1	500,8	10,01	2,44
2	501,7	10,03	2,41
3	501,0	10,02	2,43
Rata-rata (pH rata-rata±SD)			2,43 ± 0,02

Pada uji antibakteri ekstrak bunga rosela terhadap MRSA dan vankomisin, ditemukan adanya zona hambat pada konsentrasi ekstrak 10%; 5%; 2,5% (Tabel III). Nilai KHM ekstrak rosela adalah 2,5% yang berarti penggunaan ekstrak rosela pada konsentrasi tersebut sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Nilai KHM yang sama juga ditemukan pada penelitian tahun 2016 oleh Errory (Ramadiansyah, 2016).

Tabel III. Hasil pengukuran diameter zona hambat

Konsentrasi ekstrak	Zona Hambat (mm)			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata
10%	16,03	16,23	16,40	16,22±0,18
5%	14,20	15,57	15,10	14,95±0,70
2,5%	10,10	10,10	10,03	10,08±0,04
1,25%	-	-	-	-
0,625%	-	-	-	-
Vankomisin 50 ppm	16,73	16,50	15,63	16,29±0,47

Klasifikasi keefektifan aktivitas antibakteri berdasarkan zona hambat yang terbentuk dikemukakan oleh Davis dan Stout (1971) dimana klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona bening dibagi menjadi 4 kelompok yaitu respon lemah (diameter 5 mm), sedang (diameter 5-10 mm), kuat (10-20 mm), dan sangat kuat (diameter 20 mm). sehingga berdasarkan klasifikasi tersebut respon hambatan pertumbuhan bakteri MRSA pada nilai KHM 2,5% tergolong kuat.

Pengamatan efek antioksidan dilakukan menggunakan metode uji DPPH. Efek antioksidan ekstrak ditunjukkan oleh persentase inhibisi ekstrak terhadap DPPH (Tabel IV).

Tabel IV. Hasil pengamatan absorbansi dan perhitungan % inhibisi

Konsentrasi ekstrak	Absorbansi (λ=516 nm)			Inhibisi (%)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Kontrol (DPPH)	0,85463	0,87767	0,87679	0	0	0
200 ppm	0,83412	0,84978	0,84085	2,40	3,18	4,10
400 ppm	0,82495	0,81599	0,81064	3,47	7,03	7,54
600 ppm	0,76048	0,75938	0,75923	11,02	13,45	13,41
800 ppm	0,69398	0,71642	0,68558	18,80	18,37	21,81
1000 ppm	0,52884	0,30992	0,49750	38,12	64,69	43,26
				IC ₅₀ (ppm)		
				1425		
				1029		
				1299		
				IC ₅₀ rata-rata (ppm)		
				1251±202,32		

Sebelum mendapatkan data persen inhibisi, absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang maksimal (516 nm) terlebih dahulu untuk mengetahui jumlah DPPH yang masih ada atau tidak teredam. Perolehan absorbansi sampel kemudian dikonversi ke nilai %inhibisi lalu dilakukan perhitungan IC₅₀. Nilai IC₅₀ dalam uji DPPH menunjukkan konsentrasi saat sampel berhasil meredam 50% DPPH dan merupakan

konsentrasi efektif aktivitas antioksidan suatu sampel (Tristantini *et al.*, 2016). Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi efek antioksidan yang dimiliki oleh sampel. Nilai IC_{50} didapatkan dengan cara menentukan persamaan regresi (konsentrasi vs %inhibisi) lalu mencari nilai x dengan memasukkan nilai $y=50$. Pada hasil uji antioksidan replikasi 1 didapatkan persamaan regresi $y=0,043x - 11,269$ ($r=0,9377$) sehingga didapatkan nilai IC_{50} sebesar 1425 ppm. Pada replikasi 2 didapatkan persamaan regresi $y=0,067x - 18,964$ ($r=0,8524$) dan menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 1029 ppm. Sedangkan pada replikasi 3 didapatkan persamaan regresi $y=0,046x - 9,753$ ($r=0,9371$) dan nilai IC_{50} sebesar 1299 ppm. Berdasarkan nilai IC_{50} ketiga replikasi didapatkan IC_{50} rata-rata yakni $1251 \pm 202,32$ ppm. Pada konsentrasi 1251 ppm terdapat ekstrak sebanyak 1251 mcg tiap ml, sehingga pada 3,5 ml sampel yang ditambahkan terdapat sebanyak 4478,5 mcg. Nilai IC_{50} yang didapatkan dalam penelitian ini berbeda dengan penelitian yang pernah dilakukan oleh (Liuqing *et al.*, 2012), yaitu ekstrak air rosela memiliki nilai IC_{50} sebesar 486,52 ppm. Penelitian lain oleh Simanjuntak (2019) mendapatkan nilai IC_{50} ekstrak air kelopak rosela sebesar 476 ppm. Pada penelitian ini didapatkan hasil uji antioksidan yang cukup variatif dan kurang rendah dalam linearitas berdasarkan nilai korelasi (r) yang didapatkan pada persamaan regresi tiap replikasi. Hal ini dapat disebabkan oleh faktor-faktor tertentu. Beberapa diantaranya adalah bentuk sampel uji yang merupakan serbuk sehingga didalamnya terkandung bahan ekspien yang dapat memengaruhi hasil uji. Selain itu penggunaan pelarut air dan metanol dalam prosedur dapat menyebabkan reaksi tertentu yang tidak teramati secara visual namun memengaruhi hasil analisis. Faktor lain yang dapat memengaruhi hasil uji adalah pelaksanaan prosedur penelitian yang dapat berupa kesalahan pelaksanaan prosedur kerja atau prosedur kerja yang dilakukan memiliki tingkat ketidaktepatan yang cukup tinggi sehingga sangat memengaruhi hasil penelitian kuantitatif seperti penentuan nilai IC_{50} dan KHM. Solusi agar hal ini dapat terhindari adalah dengan melakukan prosedur preparasi sampel yang dapat meminimalkan kontaminan yang terlibat seperti dengan melakukan sentrifugasi dan penyaringan. Selain itu perlu memerhatikan ketelitian alat yang digunakan dan memastikan untuk menyusun prosedur kerja yang dapat meminimalkan kesalahan hasil uji seperti mengganti pemipetan 2 kali dengan pemipetan sekali menggunakan alat dengan ketidaktepatan yang lebih rendah.

Kesimpulan

Ekstrak bunga rosela memiliki efek antibakteri terhadap MRSA dengan nilai KHM sebesar 2,5% serta efek antioksidan dengan nilai IC_{50} terhadap radikal bebas DPPH sebesar $1251 \pm 202,32$ ppm.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian, disarankan agar pada penelitian efek antibakteri terhadap MRSA dilakukan uji rasio potensi antara ekstrak bunga rosela dengan vankomisin, serta pada uji antioksidan ekstrak bunga rosela menggunakan metode uji DPPH dilakukan optimasi prosedur kerja agar dapat menghasilkan hasil yang optimal.

Daftar Pustaka

- Budi, U. S. *et al.* (2018) *Varietas Unggul Tanaman Rosela*, BALITTAS - Kementrian Pertanian.
- Bridson, E. Y. (2006) 'The Oxoid Manual 9th Edition'.
- Da-Costa-Rocha, I. *et al.* (2014) 'Hibiscus sabdariffa L. - A phytochemical and pharmacological review', *Food Chemistry*, 165, pp. 424–443. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.002.
- Darna, Turnip, M. and Rahmawati (2018) 'Identifikasi Bakteri Anggota Enterobacteriaceae pada Makanan Tradisional Sotong Pangkong', *Jlabmed*, 2(2), pp. 6–12.
- Darsana, I. G. O., Besung, I. N. K. and Mahatmi, H. (2012) 'Potensi Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli Secara in Vitro', *Indonesia Medicus Veterinus*, 1(3), pp. 337–351.
- Dhar, P. *et al.* (2015) 'Chemistry, phytotechnology, pharmacology and nutraceutical functions of kenaf (Hibiscus cannabinus L.) and roselle (Hibiscus sabdariffa L.) seed oil: An overview', *Industrial Crops & Products*, 77, pp. 323–332. doi: 10.1016/j.indcrop.2015.08.064.
- Hussein, R. M. *et al.* (2010) 'Biochemical and molecular characterization of three colored types of roselle Biochemical and molecular characterization of three colored types of roselle (Hibiscus sabdariffa L.)', *Journal of American Science*, 6(11), pp. 726–733.
- Isnaeni, Hendradi, E. and Zettira, N. Z. (2020) 'Inhibitory Effect of Roselle Aqueous Extracts- HPMC 6000 Gel on the Growth

- of *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923', *Turk J Pharm Sci*, 17(2), pp. 190–196. doi: 10.4274/tjps.galenos.2019.88709.
- Jumiarni, W. O. and Komalasari, O. (2017) 'Eksplorasi Jenis Dan Pemanfaatan Tumbuhan Obat Pada Masyarakat Suku Muna Di Permukiman Kota Wuna', *Traditional Medicine Journal*, 22(1), pp. 45–56.
- Liuqing, Y. *et al.* (2012) 'Antioxidant Capacity of Extract from Calyx Fruits of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)', *African Journal of Biotechnology*, 11(17), pp. 4063–4068.
- Madduluri, S., Rao, K. B. and B.Sitaram (2013) 'In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human', *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(4), pp. 679–684.
- Mahadevan, N. and Kamboj, P. (2009) 'Hibiscus sabdariffa Linn . – An overview', *Natural Product Radiance*, 8(1), pp. 77–83.
- Masnadi (2019) 'Keanekaragaman Family Malvaceae Di Hutan Taman Eden 100 Sebagai Bahan Perangkat Pembelajaran Biologi Masnadi: Keanekaragaman Family Malvaceae di Hutan Taman Eden 100 sebagai Bahan Perangkat 1 . Latar Belakang Hutan di kawasan Danau Toba merupakan potensi', *Biology Education Science & Technology (BEST) Journal*, 2(2), pp. 32–41.
- Murianingrum, M. (2013) *Pelepasan Varietas Baru Rosela Minuman (Hibiscus sabdariffa var. sabdariffa)*. Available at: <http://www.balittas.litbang.pertanian.go.id>.
- Nurnasari, E. and Khuluq, A. D. (2018) 'Potensi Diversifikasi Rosela Herbal (*Hibiscus sabdariffa* L.) untuk Pangan dan Kesehatan', *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri*, 9(2), p. 82. doi: 10.21082/btsm.v9n2.2017.82-92.
- Pacôme, O. A. *et al.* (2014) 'Phytochemical and Antioxidant Activity of Roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Petal Extracts', *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5(1453), pp. 1453–1465.
- Ramadiansyah, E. (2016) 'Efektivitas Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap Bakteri Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*'.
- Sayuti, K. and Yenrina, R. (2015) *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.
- Simanjuntak, H. D. (2019) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)'.
- Sulistiyarningsih (2010) Uji Kepekaan Beberapa Sediaan Antiseptik terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (*MRSA*). UNIVERSITAS PADJADJARAN.
- Tristantini, D. *et al.* (2016) 'Penguujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L)', pp. 1–7.