

Efek Diuretik Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) pada Tikus Wistar Jantan

Elin Yulinah S^{(a)*}, Sri Wahyuningsih^(a,b), Kenah Ratna P^(b)

^(a)Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung

^(a)Fakultas Farmasi UNJANI

Telah diteliti efek diuretik ekstrak air kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) pada tikus jantan Wistar menggunakan metode Lipschitz dengan modifikasi. Dosis yang digunakan untuk ekstrak air kelopak bunga rosela 25, 50, dan 100 mg/kgBB yang diberikan secara oral. Sebagai pembanding adalah furosemid dosis 3,6 mg/kgBB. Parameter yang diamati adalah volume urin kumulatif selama 6 jam dan 24 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua dosis ekstrak air kelopak bunga rosela mempunyai efek diuretik dibandingkan dengan kontrol berbeda bermakna ($P \leq 0,05$). Ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 50 mg/kgBB juga memiliki sifat saluretik dengan volume urin kumulatif selama 24 jam sebesar 271,406%, sedangkan furosemid dosis 3,6 mg/kgBB sebesar 263,018%; ekskresi ion natrium dan kalium lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol maupun pembanding. Ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 50 mg/kgBB menunjukkan efek diuretik yang bersifat saluretik berbeda bermakna terhadap kontrol dan setara dengan pembanding furosemid.

Kata kunci: diuretik, ekstrak air, kelopak bunga rosela, *Hibiscus sabdariffa* Linn.

*The Diuretic Effect of Water Extract of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Calix in Male Wistar Rats*

Diuretic effect test of water extract of roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) calix have been conducted in male Wistar rats using modified Lipschitz method. The doses of water extract of roselle calyx were 25 mg/kgBW, 50 mg/kgBW and 100 mg/kgBW orally. Furosemide at a dose of 3.6 mg/kgBW was used as comparison. Parameters observed were the cumulative urine volume released every 30 minutes for 6 hours and for 24 hours after the administration of the test extract and the measurement electrolyte contents of sodium ions and potassium in rats's urine to determine saluretic effect. The result showed that water extract of Roselle calyx have significantly diuretic effect at a dose 50 mg/kgBW ($p \leq 0.05$). It has properties saluretic with cumulative urine volume for 24 hour 271.406% where as furosemide dose of 3.6 mg/kgBW of 263.018%; excretion of sodium and potassium ions was higher than the control or comparison. The water extract of Roselle calyx at a dose of 50 mg/kgBW showed saluretic effect which was significantly different if it compared to control group ($p \leq 0.05$) and had similar effect with furosemide ($p \geq 0.05$).

Keywords: diuretic, calyx of Roselle, water extract, *Hibiscus sabdariffa* Linn.

PENDAHULUAN

Diuretik merupakan obat yang meningkatkan laju aliran urin dan sekresi natrium serta digunakan untuk mengatur volume dan atau komposisi cairan tubuh pada berbagai keadaan klinis (Mutschler, 1999). Penggunaan klinis diuretika yang paling penting adalah edema dengan cara mengeluarkan cairan edema (dan elektrolit). Penggunaan ini diharapkan mampu memobilisasi cairan intestisinal edema tanpa penurunan volume plasma yang bermakna sehingga volume cairan ekstraseluler kembali normal, sedangkan untuk keadaan tanpa edema, diuretik diharapkan mampu menurunkan tekanan darah dengan cara mengosongkan natrium tubuh dan menurunkan volume darah (Katzung, 2001; Mutschler, 1999).

Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) pada awalnya merupakan tanaman hias yang tumbuh di pekarangan rumah, berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku makanan, minuman, kosmetik, pewarna alami maupun sebagai pengobatan atau bahan obat. Dilihat dari kandungan nutrisi yang tinggi yang terkandung dalam tumbuhan rosela, seperti kandungan antosianin yang terdapat pada kelopak bunga rosela yang bermanfaat sebagai antioksidan serta secara empiris bagian daun dari tanaman rosela digunakan sebagai pencahar, diuretik dan anti-hipertensi; bagian biji digunakan untuk mengobati penyakit kulit dan kekurangan darah; sedangkan bagian kelopak digunakan sebagai diuretik, anti-hipertensi, dan antiskorbut (Mardiyah dkk., 2009; Maryani, 2008).

Penelitian secara ilmiah tentang khasiat ekstrak etanol kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) untuk pengobatan diuretik sudah pernah dilakukan (Effti, 2013). Berdasarkan hal tersebut yang mendorong penulis untuk melakukan penelitian secara ilmiah mengenai ekstrak air kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) sebagai obat yang berkhasiat untuk diuretik.

METODE PENELITIAN

Metode uji diuretik yang digunakan adalah metode Lipschitz 1943 dengan modifikasi. Pada metode ini hewan uji dipuasakan selama 12 jam sebelum dilakukan pengujian dengan tetap diberikan air minum. Hewan terdiri atas 5 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus jantan, dimana satu kelompok sebagai kelompok kontrol yang hanya diberi suspensi CMC Na 0,5% 10 mL/kgBB, satu kelompok sebagai kelompok pembanding yang diberi suspensi furosemid dosis 3,6 mg/kgBB, tiga kelompok sebagai kelompok uji ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 25, 50, dan 100 mg/kgBB.

Semua tikus pada kelompok percobaan diberi NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 20 mL/kgBB sebagai *loading dose* secara oral. Setelah 30 menit masing-masing kelompok diberikan sediaan uji sesuai dengan kelompoknya. Setelah pemberian larutan uji, tikus ditempatkan ke dalam kandang metabolisme individual dan volume urin yang diekskresikan

dicatat setiap 30 menit selama 6 jam dan 24 jam (Vogel, 2008). Setelah itu dihitung persentase urin kumulatif. Perhitungan persentase urin kumulatif dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Volume urin kumulatif} = \frac{\text{Volume urin yang dikeluarkan}}{\text{Volume NaCl yang diberikan}} \times 100 \%$$

Kriteria penilaian aktifitas diuretik apabila nilai volume urin kumulatif yang diperoleh sebesar >80% dibandingkan dengan kelompok kontrol dari masing-masing perlakuan. Hasilnya kemudian diolah secara statistika menggunakan uji *Student-t*.

Untuk mengetahui pengaruh sediaan uji terhadap ekskresi elektrolit, dilakukan penentuan kadar elektrolit ion natrium dan ion kalium dalam urin tikus menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). Dibuat larutan elektrolit standar dengan berbagai konsentrasi kemudian masing-masing larutan diukur serapannya pada panjang gelombang 589,0 nm untuk natrium dan 766,5 nm untuk kalium. Dari hasil pengukuran tersebut dibuat kurva kalibrasi yang menggambarkan hubungan antara serapan dengan konsentrasi masing-masing unsur. Konsentrasi unsur dari larutan sampel dapat ditentukan dari kurva kalibrasi yang diperoleh.

Alat

Timbangan analitik, kandang tikus, kandang metabolisme, timbangan tikus, cawan penguap, krus porselen, tanur, desikator, seperangkat alat dekok, sonde oral, mortir dan stamper, alat gelas, alat penggiling, mikroskop, penangas air, pemanas atau *hot plate*, alat *freeze dryer* (*Eyela FDU 1200 Japan*) dan Spektrofotometer Serapan Atom (*Shimadzu AA 6200*).

Bahan

Kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.), CMC Na, larutan NaCl fisiologis 0,9%, furosemid, kloroform, asam nitrat, asam klorida 0,1 N, asam klorida 2 N, perekasi Mayer, pereaksi Dragendorff, serbuk magnesium, amil alkohol, larutan besi (III) klorida, larutan gelatin 1%, eter, perekasi vanilin 10% dalam asam sulfat, pereaksi Liebermann-Burchrad, larutan kalium hidroksida (KOH) 5%, etanol 96%, amonia encer 10%, pakan tikus, etil asetat, dan asam asetat 15%.

Hewan Percobaan

Tikus jantan galur *wistar* berumur ±8-10 minggu dengan bobot antara 200 sampai 300 gram sebanyak 50 ekor yang diperoleh dari KPP Ilmu Hayati Institut Teknologi Bandung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil karakteristik ekstrak air kelopak bunga rosela menunjukkan ekstrak memenuhi standar dimana susut pengeringan 3,25 % (tidak lebih dari 10%), kadar abu total 2,39 % (tidak lebih dari 2,6%), kadar abu larut air 1,35% dan kadar abu larut asam sebesar 0,08% tidak lebih dari 0,1% (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995). Hasil penapisan fitokimia ekstrak air kelopak bunga

TABEL 1. Persentase Volume Urin Kumulatif (%) Setelah Pemberian Sediaan Uji Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela

Waktu Perlakuan (menit)	Kontrol CMC Na 0,5% 10 mL/kgBB	Pembanding Furosemid Dosis 3,6 mg/kgBB	% Volume Urin Kumulatif Kelopak Bunga Rosela		
			Dosis 25 mg/kg BB	Dosis 50 mg/kg BB	Dosis 100 mg/kg BB
30'	12,230 ±13,917	37,586 ±24,998	21,699 ±9,886	13,687 ±3,272	39,271 ±18,813*
60'	20,456 ±17,552	60,148 ±34,522*	32,626 ±15,705	24,937 ±8,748	53,586 ±21,389*
90'	28,824 ±20,432	73,428 ±30,845*	39,805 ±18,860	33,869 ±16,734	58,089 ±22,165*
120'	32,573 ±19,645	92,968 ±43,021*	42,655 ±18,863	43,875 ±23,315	61,423 ±18,336*
150'	35,500 ±23,011	101,592 ±48,515*	46,550 ±16,776	61,234 ±26,210	66,309 ±19,962*
180'	39,223 ±19,911	104,092 ±45,272*	48,899 ±14,938	68,832 ±26,273	72,131 ±22,961*
210'	47,349 ±15,160	110,660 ±45,681*	63,889 ±27,340	81,836 ±23,266*	90,344 ±21,992*
240'	49,256 ±14,306	117,061 ±50,079*	71,401 ±20,743*	92,772 ±24,060*	91,594 ±20,905*
270'	54,819 ±9,857	126,248 ±45,019*	74,262 ±18,865*	96,933 ±23,903*	95,441 ±16,932*
300'	56,282 ±11,419	132,948 ±51,577*	77,940 ±17,986*	100,489 ±28,655*	97,713 ±20,394*
330'	58,143 ±10,254	139,096 ±57,378*	81,731 ±17,601*	124,451 ±19,084*	103,963 ±19,661*
360'	68,241 ±13,438	146,514 ±61,705*	84,231 ±16,883*	128,996 ±21,765*	108,530 ±25,111*
1440'	132,919 ±18,016	263,018 ±42,567*	167,470 ±29,512*	271,406 ±57,233*	198,998 ±17,278*

Keterangan : angka yang tercantum adalah rata-rata hasil pengukuran 5 ekor tikus beserta simpangan bakunya (X±S); * menunjukkan perbedaan berbeda bermakna terhadap kontrol; ...* menunjukkan onset dimulainya efek diuretik.

TABEL 2. Hasil Penentuan Jumlah Ion Natrium dalam Urin 24 Jam Setelah Pemberian Sediaan Uji Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela

Kelompok	Volume Urin 24 jam (mL)	Konsentrasi Natrium (µg/mL)	Jumlah Natrium (µg)	Jumlah Natrium (mg)
Kontrol (CMC 0,5%)	4,97 ±0,503	974,018 ±17,214	4842,798 ±567,259	4,843 ±0,567*
Furosemid Dosis 3,6 mg/kgBB	14,27 ±0,473	1115,607 ±19,564	15912,723 ±441,678	15,913 ±0,442
Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela Dosis 25mg/kgBB	7,27 ±0,416	1173,994 ±13,857	8527,775 ±410,440	8,528 ±0,410*
Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela Dosis 50 mg/kgBB	13,50 ±1,744	1127,284 ±14,453	15201,757 ±1760,343	15,202 ±1,760*
Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela Dosis 100mg/kgBB	8,80 ±0,100	1077,071 ±11,182	9478,724 ±188,747	9,479 ±0,189*

Keterangan : * menunjukkan efek berbeda bermakna terhadap kelompok kontrol, jumlah natrium (µg) = konsentrasi natrium (µg/mL) x volume urin 24 jam (mL).

rosela mengandung favonoid, polifenol, quinon, saponin (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

Metode uji diuretik yang digunakan adalah metode Lipschitz dengan modifikasi. Sebelum diberi larutan uji, tikus diberikan NaCl fisiologis 0,9% dengan volume pemberian 20 mL/kgBB sebagai *loading dose* untuk menghindari terjadinya dehidrasi dan juga meningkatkan kecepatan urinasi pada

tikus. Parameter yang digunakan untuk melihat efek diuretik adalah persentase volume urin kumulatif yang diperoleh dari perhitungan volume urin total yang diekskresikan dibandingkan dengan volume pemberian *loading dose* (NaCl fisiologis 0,9%), dinyatakan memiliki efek diuretik apabila persentase volume urin kumulatif lebih besar dari 80%. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa data hasil perhitungan persentase volume urin kumulatif pada kelompok kontrol menunjukkan onset dimulainya efek diuretik pada menit ke-1440 dengan persentase volume urin kumulatif selama 24 jam sebesar 132,919. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB menunjukkan onset dimulainya efek diuretik berturut-turut pada menit ke-330, 210, dan 210 dengan persentase urin kumulatif selama 24 jam yang diperoleh berturut-turut sebesar sebesar 167,470%, 271,406%, dan 198,998%. Dari data tersebut, hanya kelompok ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 50 mg/kgBB mempunyai efek diuretik sebesar 271,406% yang setara dengan kelompok pembanding furosemid sebesar 263,018% pada menit ke-1440 (**Tabel 1**).

Hasil analisis statistik *student-t* menunjukkan volume urin kumulatif (mL) pada ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 25 mg/kgBB memberikan efek diuretik berbeda bermakna terhadap kontrol dimulai dari menit 240 sampai menit 1440, sedangkan ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 50 mg/kgBB dimulai dari menit 210 sampai menit 1440 dan dosis 100 mg/kgBB memberikan efek diuretik berbeda bermakna terhadap kontrol dimulai dari menit 30 sampai menit 1440 ($P \leq 0,05$). Hal ini menunjukkan sediaan uji ekstrak air kelopak bunga rosela mempunyai efek diuretik dibandingkan dengan kontrol.

Hasil analisis statistik *student-t* sediaan uji bila dibandingkan dengan kelompok pembanding, ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 25 mg/kgBB memberikan efek diuretik tidak berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok pembanding dimulai pada menit 30 sampai 90 dan pada menit 210 sampai menit 240 ($P \geq 0,05$), namun pada menit 120 sampai menit 180 dan pada menit 270 sampai menit 1440 memberikan efek diuretik berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok pembanding. Hal ini berarti sediaan uji mempunyai efek diuretik lebih rendah dibandingkan dengan pembanding. Ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 50 mg/kgBB memberikan efek diuretik yang tidak berbeda bermakna terhadap kelompok pembanding dimulai pada menit 30 sampai 60 dan pada menit 120 sampai menit 1440 ($P \geq 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa sediaan uji mempunyai efek diuretik setara dengan pembanding dan ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 100 mg/kgBB memberikan efek diuretik tidak berbeda bermakna terhadap kelompok pembanding dimulai pada menit 30 sampai menit 360 ($P \geq 0,05$). Hal ini berarti sediaan uji mempunyai efek diuretik lebih rendah dibandingkan dengan pembanding. Dari hasil tersebut hanya ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 50 mg/kgBB yang mempunyai

TABEL 3. Hasil Penentuan Jumlah Ion Kalium dalam Urin 24 Jam Setelah Pemberian Sediaan Uji Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela

Kelompok	Volume Urin 24 jam (mL)	Konsentrasi Kalium ($\mu\text{g/mL}$)	Jumlah Kalium (μg)	Jumlah Kalium (mg)
Kontrol (CMC 0,5%)	4,97 $\pm 0,503$	5368,116 $\pm 1034,466$	26992,464 $\pm 7985,340$	26,992 $\pm 7,985$
Furosemid Dosis 3,6 mg/kgBB	14,27 $\pm 0,473$	2907,246 $\pm 951,661$	41704,927 $\pm 14546,110$	41,705 $\pm 14,546$
Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela Dosis 25mg/kgBB	7,27 $\pm 0,416$	4791,304 $\pm 596,080$	34713,043 $\pm 3446,439$	34,713 $\pm 3,446$
Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela Dosis 50 mg/kgBB	13,50 $\pm 1,744$	4475,362 $\pm 1028,601$	59595,358 $\pm 9979,833$	59,595 $\pm 9,979^*$
Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela Dosis 100mg/kgBB	8,80 $\pm 0,100$	6257,971 $\pm 616,407$	55091,014 $\pm 5808,417$	55,091 $\pm 5,808^*$

Keterangan : * menunjukkan efek berbeda bermakna terhadap kelompok kontrol, jumlah kalium (μg) = konsentrasi natrium ($\mu\text{g/mL}$) x volume urin 24 jam (mL).

efek setara dengan pembandingan.

Pengukuran elektrolit ion natrium dan ion kalium dalam urin tikus bertujuan untuk mengetahui apakah sediaan uji bersifat saluretik. Hasil menunjukkan kandungan rata-rata ion natrium pada kelompok kontrol sebesar 4,843 mg, pada ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB secara berturut-turut sebesar 8,528 mg, 15,202 mg dan 9,479 mg (**Tabel 2**). Hasil pengukuran kandungan ion kalium terhadap kelompok kontrol diperoleh hasil sebesar 26,992 mg. Kandungan ion kalium pada ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 25, 50, dan 100 mg/kgBB secara berturut-turut sebesar 34,713 mg, 59,595 mg, dan 55,091 mg (**Tabel 3**). Hasil tersebut menunjukkan bahwa semua dosis pada sediaan uji bersifat saluretik dibandingkan kelompok kontrol dengan ditunjukkan hasil ekskresi ion natrium dan kalium yang tinggi berarti sediaan uji tersebut tidak menahan pengeluaran ion lewat urin baik ion natrium maupun kalium. Hasil pengukuran kadar ion natrium kelompok pembandingan sebesar 15,913 mg, menunjukan bahwa ekstrak air kelopak bunga rosela pada semua dosis uji bersifat saluretik yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok pembandingan. Hasil pengukuran ion kalium pada kelompok pembandingan sebesar 41,705 mg. Dari hasil tersebut terlihat pada ekstrak air kelopak bunga

rosela dosis 50 dan 100 mg/kgBB menunjukkan ekskresi ion kalium lebih besar dibandingkan dengan kelompok pembandingan, sedangkan pada dosis yang lain memiliki kandungan kalium yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok pembandingan.

Hasil analisis statistik *student-t* menunjukkan kadar ion natrium kelompok pembandingan memberikan hasil yang berbeda bermakna terhadap kelompok kontrol ($P \leq 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak air kelopak bunga rosela bersifat saluretik karena dilihat dari pengeluaran ion natrium dan kalium tinggi. Ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 25, 50, dan 100 mg/kg BB memberikan hasil yang berbeda bermakna terhadap kelompok kontrol ($P \leq 0,05$), menunjukkan bahwa sediaan uji bersifat saluretik yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Namun ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 25 dan 100 mg/kgBB memberikan hasil yang berbeda bermakna dengan pembandingan yang bersifat saluretik, yaitu lebih rendah dibandingkan dengan pembandingan. Hanya pada kelompok dosis 50 mg/kgBB yang memberikan hasil yang tidak berbeda bermakna ($P \geq 0,05$) terhadap kelompok pembandingan. Hal ini menunjukkan bahwa pada ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 50 mg/kgBB mempunyai efek diuretik yang bersifat saluretik yang setara dengan pembandingan. Pada ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 50 dan dosis 100 mg/kgBB memberikan hasil yang berbeda bermakna terhadap kelompok kontrol ($P \leq 0,05$) dan tidak berbeda bermakna terhadap kelompok pembandingan ($P \geq 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa sediaan uji bersifat saluretik yang lebih tinggi terhadap kontrol dan pembandingan.

KESIMPULAN

Hasil penelitian uji efek diuretik menunjukkan bahwa semua dosis ekstrak air kelopak bunga rosela mempunyai efek diuretik dibandingkan dengan kontrol berbeda bermakna ($P \leq 0,05$). Untuk melihat kesetaraan dengan pembandingan, hanya ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 50 mg/kgBB secara statistik menunjukkan hasil yang tidak berbeda bermakna terhadap pembandingan ($P \geq 0,05$). Ekstrak air kelopak bunga rosela dosis 50 mg/kgBB juga memiliki sifat saluretik dengan volume urin kumulatif selama 24 jam sebesar 271,406% dan furosemid dosis 3,6 mg/kgBB sebesar 263,018% serta ekskresi ion natrium dan kalium lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol dan pembandingan furosemid.

DAFTAR PUSTAKA

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995, **Materia Medika Indonesia**, Jilid VI, Jakarta, 322-327.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995, **Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat**, Cetakan Pertama, Jakarta, 17,31.
- Eftti S, 2013, Uji Efek Diuretik Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) dan Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) pada Tikus Jantan Wistar, **Skripsi**, Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Katzung BG, 2001, **Farmakologi Dasar dan Klinik**, Jilid 1, Salemba Medika, Jakarta, 273, 429-461.

- Mutschler E, 1999, **Dinamika Obat**, Edisi V, ITB, Bandung, 551-552, 567-575.
- Mardiah S, Ashadi RW, dan Rahayu A, 2009, **Budidaya dan Pengolahan Rosela**, Agromedia Pustaka, Jakarta, 1-2,13-14,23.
- Maryani H dan Kristiana L, 2008, **Khasiat dan Manfaat Rosela**, ed. revisi, Agromedia Pustaka, Jakarta, 1-12.
- Vogel H.G., 2008, **Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assays**, 3rd ed., Springer-Verlag Berlin Heideberg, 323-324.