

**KARAKTER SPESIFIK DAN PENGARUH PEMBERIAN ORAL
EKSTRAK TERPURIFIKASI KELOPAK ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*
L.) TERHADAP MAKROSKOPIS ORGAN HEPAR TIKUS WISTAR**

***SPECIFIC CHARACTER AND EFFECT ORAL ADMINISTRATION OF
ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.) CALYX PURIFIED EXTRACT ON
MACROSCOPIS WISTAR RATS HEPAR***

Fita Sari, Dyah Aryantini

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima 1 Maret
2018
Disetujui 1 Juni
2018
Dipublikasikan 16
Juni 2018

Kata Kunci:

Karakterisasi,
ekstrak, purifikasi,
hepar, rosella

Abstrak

Latar belakang: Proses pembuatan obat tradisional memerlukan karakter spesifik yang dapat menjamin kualitas senyawa bioaktif tanaman sehingga memiliki aktivitas farmakologi. Ekstrak yang berkualitas adalah ekstrak yang memenuhi persyaratan standar parameter yang tercantum dalam Farmakope Herbal Indonesia. **Tujuan:** Untuk mengetahui karakterisasi spesifik ekstrak terpurifikasi kelopak rosella dan pengaruhnya terhadap organ hepar Tikus Wistar secara makroskopis. **Metode:** Purifikasi ekstrak, karakterisasi parameter spesifik dan pengamatan organ hepar. Analisis data secara deskriptif. **Hasil:** Parameter sari larut air dengan kadar 24,9 % dan kadar sari larut dalam etanol kadar 30,6%. Deteksi kandungan flavonoid menunjukkan R_f senyawa bioaktif sama dengan R_f quersetin. **Simpulan dan saran:** Karakter spesifik ekstrak terpurifikasi kelopak rosella memenuhi persyaratan FHI dan melalui pemberian oral ekstrak tidak mempengaruhi organ hepar tikus Wistar. Memerlukan uji aktivitas farmakologi terhadap kelompok hewan uji.

Abstract

Background: The process of making traditional medicine requires a specific character that can ensure the quality of bioactive compounds that have pharmacological activity. Quality extracts are extracts that meet the requirements of the standard parameters listed in Farmakope Herbal Indonesia.

Objectives: determine the specific characterization of purified extract of roselle calyx and their effect on liver organ Wistar Rats as macroscopis.

Methods: purification of extracts, characterization of specific parameters and observation of liver organ. Descriptive data analysis. **Result:** water soluble extract parameter with concentration 24,9 % and soluble extract content of ethanol 30,6%. Detection of flavonoid content showed R_f of bioactive compound equal to R_f quercetin.

Conclusions and suggestions: specific character of purified extract suitable to requirements of FHI and through oral administration of the extract does not affect the Wistar rats liver organ. Requires test of pharmacological activity against animal group of test.

Keywords

:characterize,
extract, purified,
hepar, rosella

PENDAHULUAN

Penyakit merupakan keadaan yang tidak normal dialami oleh tubuh, karena berhubungan dengan organ penting lain seperti jantung, paru serta otak. Banyak cara yang digunakan untuk mencegah dan mengobati terjadinya penyakit baik secara alami maupun kimiawi. Tanaman di Indonesia memiliki peran penting dalam mengobati berbagai penyakit mulai dari akar, batang, daun, kelopak bunga hingga biji dari tanaman. Berbagai tanaman tradisional di Indonesia yang tersebar, banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional (Anonim, 2005).

Penemuan obat tradisional memerlukan suatu rangkaian pengujian khusus sehingga kualitas dari obat tradisional tetap terjamin. Terdapat beberapa syarat mutu dalam pembuatan obat tradisional diantaranya adanya karakterisasi, standarisasi simplisia dan ekstrak, identifikasi senyawa aktif tanaman hingga menghasilkan suatu isolat murni yang siap dijadikan sebuah produk obat baru (Morales *et al.*, 2014). Produksi obat tradisional baru diperlukan suatu karakterisasi dari bahan baku, identifikasi dan perhitungan total senyawa aktif agar terjamin keamanan dan khasiat suatu produk (S.Pramono *et al.*, 2004).

Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan tanaman yang sangat mudah dijumpai di Indonesia karena termasuk dalam golongan tanaman rumahan. Kandungan senyawa aktif rosella berfungsi sebagai antioksidan yang baik dan dapat meredam radikal bebas (Ojeda *et al.*, 2010). Terdapat beberapa golongan senyawa aktif dalam rosella diantaranya asam organik, antosianin yang tercermin dalam warna kelopak rosella, serta flavonoid. Antosianin merupakan golongan flavonoid dengan derivatnya adalah *gossypetin-8-glucoside* serta *gossypetin-7-glucoside* yang menghasilkan pigmen warna alami pada rosella (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

Penelitian terdahulu yang berkaitan dengan manfaat senyawa aktif rosella sebagai terapi suatu penyakit yaitu pada ekstrak air kelopak rosella dengan dosis 1 mg/kg BB hingga 1000 mg/kg BB memiliki efek menurunkan tekanan darah pada hewan uji dan tidak menimbulkan efek toksik (Hopkins *et al.*, 2013). Penelitian lain yang dilakukan oleh Barhe *et al.*, (2016) menyatakan bahwa senyawa flavonoid banyak terdapat pada kelopak bunga dengan pigmen warna menarik memiliki banyak manfaat sebagai antioksidan untuk mengobati berbagai penyakit. Senyawa flavonoid dapat berperan dalam menangkap radikal bebas sehingga tidak terjadi stres oksidatif dan tidak akan menimbulkan penyakit baru.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang karakter spesifik dari ekstrak terpurifikasi kelopak rosella serta pengaruhnya secara oral terhadap organ hepar tikus Wistar secara makroskopis. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi adalah etanol dikarenakan memiliki sifat kepolaran sama dengan zat aktif rosella. Karakterisasi terhadap parameter spesifik ekstrak dilakukan untuk menjamin kandungan senyawa bioaktif serta efek farmakologi kelopak bunga rosella, keamanan dan khasiatnya sebagai produk obat tradisional baru yang terstandar. Pembedahan dilakukan untuk mengetahui pengaruh tingkat ketoksikan ringan ekstrak terpurifikasi kelopak rosella terhadap organ hepar sehingga dapat menentukan berapa besarnya dosis dan efek senyawa aktif dalam suatu ekstrak jika diolah menjadi obat tradisional baru.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Simplisia kelopak rosella yang diperoleh dari kota Kediri Jawa Timur, etanol 70% (teknis), N-heksan (teknis), akuades, kloroform (teknis), n-butanol (p.a), asam asetat (pa), aquadest.

Corong *Buchner*, Alat Penggilingan, *Erlenmeyer*, Sonde (5 ml OneMed), Spuit injeksi ukuran 5 ml (Terumo), perangkat alat bedah hewan uji, perangkat KLT (*chamber* dan fase diam *silica* gel 60F 254), lampu UV 254 nm dan 366 nm.

Prosedur kerja

1. Prosedur Pembuatan Sampel Ekstrak Terpurifikasi

Serbuk simplisia kelopak bunga rosella diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut 70% sebanyak tiga kali pada suhu kamar. Maserat diuapkan dengan *vacum rotary evaporator* suhunya 60° C kemudian diuapkan di atas waterbath hingga didapatkan ekstrak kental (Adeyemi *et al.*, 2014).

Ekstrak kental ditimbang 20 gram dimasukkan dalam corong pisah kemudian dilarutkan kembali dengan etanol 70%. Penambahan penyari dan pengadukan dilakukan secara bertahap hingga diperoleh fase bening. Filtrat yang diperoleh dimasukkan ke corong pisah dan ditambah kloroform 100 ml. Kemudian digojog kurang lebih satu menit dan didiamkan selama 48 jam. Diperoleh fraksi kloroform dan kemudian difraksi kembali dengan kloroform sebanyak tiga kali pengulangan hingga diperoleh fraksi bening. Kemudian hasil dari fraksi dipekatkan hingga diperoleh ekstrak kental dan dihitung rendemen.

2. Prosedur Penapisan Fitokimia

Skrining golongan senyawa saponin dengan cara menambahkan HCl 2N sebanyak 5 mL pada sampel. Larutan didinginkan kemudian dikocok, hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya busa konstan selama 30 detik.

Skrining golongan senyawa alkaloid dengan cara menambahkan HCl 2N sebanyak 5 mL pada sampel, kemudian dilakukan uji dengan reagen Mayer, Wagner, dan Dragendorf. Hasil positif menunjukkan endapan putih dengan pereaksi Mayer, warna coklat muda dengan pereaksi Wagner, warna merah jingga dengan pereaksi Dragendorf.

Skrining golongan senyawa tannin dengan cara 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan 10 mL aquadest kemudian disaring dan diteteskan 2-3 tetes FeCl₃. Hasil positif menunjukkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman.

Skrining golongan senyawa triterpenoid dengan menambahkan 3 tetes reagen Lieberman-Buchard. Hasil positif akan menunjukkan warna merah atau ungu pada larutan sampel.

Skrining golongan senyawa flavonoid dengan cara 0,5 mg sampel ditambahkan dengan serbuk Mg 2 mg, kemudian ditambahkan 3 tetes HCl pekat. Hasil positif akan menunjukkan warna orange jika terdapat kandungan flavonoid (Handarini, 2016).

Skrining golongan senyawa antosianin dengan cara 0,5 mg sampel ditambahkan HCl sebanyak 5 ml, kemudian dipanaskan pada suhu 100 ° C selama 5 menit. Hasil positif jika terdapat kandungan antosianin akan menunjukkan warna merah (Handarini, 2016).

3. Prosedur Karakterisasi Parameter Spesifik

a. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dari ekstrak terpurifikasi meliputi bentuk, bau, warna dan rasa dari ekstrak terpurifikasi kelopak rosella (Astuti *et al.*, 2011).

b. Deteksi Kandungan Flavonoid

Deteksi kandungan flavonoid dalam sampel menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam silika gel 60F 254 dan fase gerak menggunakan n-butanol : asam asetat : air (6:6:1). Ekstrak kental dan quersetin ditotolkan pada silika gel 60F 254. Pengamatan dilakukan pada sinar tampak UV-Vis 254 nm dan 366 nm. Tujuan dilakukan identifikasi flavonoid menggunakan KLT adalah untuk mengetahui profil kromatografi senyawa flavonoid dalam ekstrak terpurifikasi dan menentukan baku standar dengan membandingkan bercak antara ekstrak dan pembanding (Sari, 2015).

c. Penetapan Kadar Senyawa Larut Air

Sebanyak 0,5 gram ekstrak terpurifikasi kelopak rosella ditambahkan dengan 10 ml air dan kloroform, kemudian dimaserasi di labu bersumbat. Dilakukan pengocokan selama enam jam dan diinkubasi selama 18 jam lalu disaring. Hasilnya diuapkan 2 ml filtrat tersebut hingga kering di dalam cawan penguap. Residu dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap dan kemudian hitung persen kadar senyawa larut dalam air terhadap berat ekstrak awal.

d. Penetapan Kadar Senyawa Larut Etanol

Sebanyak 0,5 gram ekstrak terpurifikasi ditambahkan dengan 10 ml etanol 95% kemudian dimaserasi menggunakan labu bersumbat. Lakukan pengocokan selama enam jam dan diinkubasi selama 18 jam kemudian disaring. Hasilnya diuapkan 2 ml filtrat hingga kering di dalam cawan penguap serta untuk residu dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap kemudian menghitung persen kadar senyawa larut dalam etanol terhadap berat ekstrak awal.

4. Prosedur Uji Pengaruh Pemberian Oral Ekstrak Terpurifikasi Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap Organ Hepar Tikus Wistar

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Wistar jantan. Hewan uji diperoleh dari lokasi peternakan hewan coba Wistar Farm Kediri. Penelitian ini sudah mendapatkan persetujuan dari komite etik Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri dengan nomor 109/PP2M-KE/IV/2018. Hewan uji dikondisikan pada suhu ruang 22°C (\pm 3 °C), dengan keadaan ruang terang selama 12 jam dan gelap selama 12 jam. Tikus diberikan makan secukupnya dan air minum *ad libitum* (tanpa batas) dengan adaptasi selama 1 minggu.

Hewan uji dibagi menjadi empat kelompok, masing – masing kelompok terdiri dari empat ekor tikus secara acak. Empat kelompok dalam penelitian ini terdiri dari kelompok kontrol (I) yang hanya diberikan suspensi CMC-Na, kelompok perlakuan (II) diberikan ekstrak terpurifikasi kelopak rosella 100 mg/kg BB, kelompok perlakuan (III) diberikan ekstrak terpurifikasi kelopak rosella 200 mg/kg BB, kelompok perlakuan (IV) diberikan ekstrak terpurifikasi kelopak rosella 400 mg/kg BB semua diberikan secara oral dengan cara dipuasakan 18 jam sebelum dipejani ekstrak terpurifikasi. Sampel diberikan satu kali di hari pertama kemudian dilakukan pengamatan selama satu jam serta diamati perubahan organ hepar secara makroskopis dengan dilakukan pembedahan organ pada tahap akhir. Kriteria pengamatan untuk uji pengaruh pemberian ekstrak terpurifikasi kelopak rosella terhadap organ hepar adalah warna organ. Pengamatan dilakukan secara makroskopis setelah dilakukan pembedahan organ.

5. Teknik dan Analisis Data

Penelitian ini menggunakan teknik random sampling dan data yang diperoleh disajikan dalam bentuk deskriptif .

HASIL PENELITIAN**1. Hasil Pembuatan Sampel Ekstrak Terpurifikasi**

Serbuk simplisia kelopak rosella sebanyak 200,12 gram diperoleh ekstrak kental sebanyak 75,24 gram dan rendemen sebesar 29,75 %. Ekstrak kental hasil purifikasi diperoleh sebanyak 25,00 gram yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Ekstrak Terpurifikasi Kelopak Rosella

2. Hasil Penapisan Fitokimia

Uji skrining fitokimia awal menunjukkan bahwa terdapat beberapa kandungan senyawa kimia aktif dalam tanaman rosella, seperti yang tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Skrining Fitokimia Ekstrak Terpurifikasi Kelopak Rosella

Skrining Fitokimia	Hasil
Flavonoid	Positif (Merah)
Antosianin	Positif (Merah bening)
Alkaloid	Positif (Endapan Coklat)
Tanin	Positif (Biru Kehitaman)
Steroid	Negatif
Triterpenoid	Positif (Merah)
Fenolik	Positif (Lebih Merah Pekat)
Saponin	Negatif

3. Hasil Karakterisasi Parameter Spesifik Ekstrak Terpurifikasi Kelopak Rosella

a. Uji Organoleptik

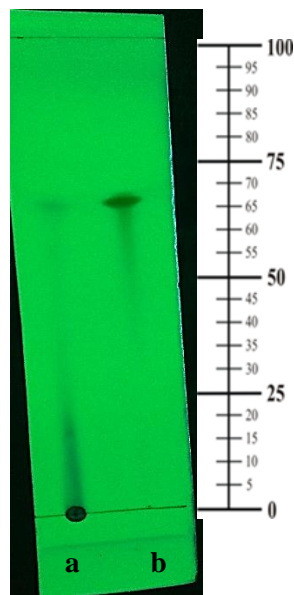
Hasil pengujian organoleptik secara lengkap terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Organoleptik dari Ekstrak Terpurifikasi Kelopak Rosella

Bentuk	Ekstrak kental
Warna	Merak kecoklatan
Rasa	Masam
Bau	Khas rosella

b. Deteksi Kandungan Flavonoid

Hasil deteksi kandungan flavonoid ekstrak terpurifikasi terhadap kuersetin secara KLT terlihat pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Hasil KLT Ekstrak Terpurifikasi Kelopak Rosella dengan fase gerak Toluena:Asam Asetat:Asam Formiat (6:6:1) yang dilihat pada UV 254 nm

Keterangan :

- a : totolan ekstrak terpurifikasi kelopak rosella
- b : totolan baku quersetin

Hasil deteksi kandungan flavonoid secara KLT menunjukkan bahwa ekstrak terpurifikasi kelopak rosella mengandung senyawa flavonoid sesuai dengan R_f pembanding quersetin yang digunakan.

c. Penetapan Kadar Senyawa Larut dalam Air

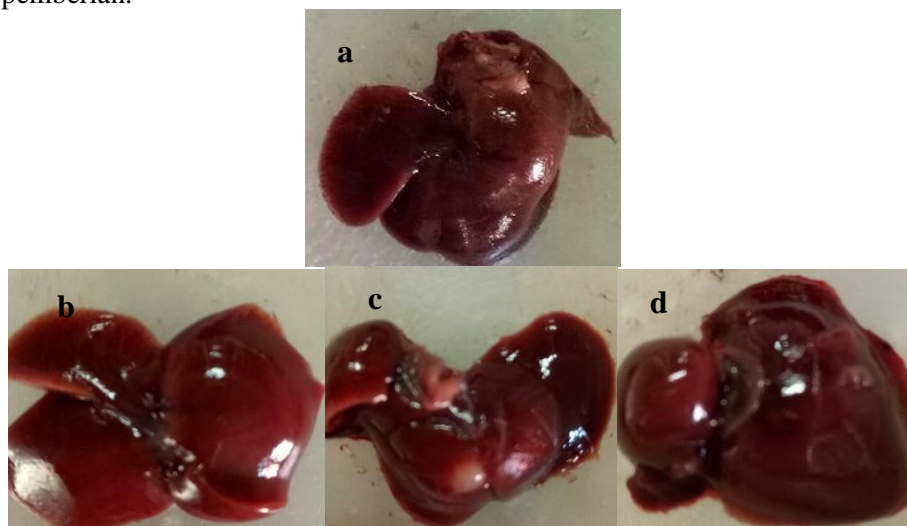
Rerata berat ekstrak setelah dilakukan uji sebesar 0,124 gram. Berat ekstrak awal sebelum dilakukan uji sebesar 0,500 gram. Persen kadar senyawa larut air sebesar 24,9 % memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia tidak kurang dari 15,5%.

d. Penetapan Kadar Senyawa Larut dalam Etanol

Rerata berat ekstrak setelah dilakukan uji sebesar 0,153 gram. Berat ekstrak awal sebelum dilakukan uji sebesar 0,500 gram. Persen kadar senyawa larut etanol sebesar 30,6% memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia 16,3%.

4. Pengaruh Pemberian Oral Ekstrak Terpurifikasi Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap Organ Hepar Tikus Wistar

Ekstrak terpurifikasi kelopak rosella, selain memiliki efek terapi juga diduga memiliki efek toksik terhadap suatu organ. Senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak terpurifikasi kelopak rosella, memiliki tingkat toksik ringan hingga berat. Hasil uji dari pengamatan secara makroskopis, terlihat bahwa ekstrak terpurifikasi kelopak rosella yang diberikan secara oral pada hewan uji tikus Wistar tidak menimbulkan pengaruh toksisitas pada organ hepar dalam Gambar 3. Ekstrak terpurifikasi kelopak rosella diberikan secara oral pada hari pertama dengan satu kali pemberian.



Gambar 3. Hasil pengamatan makroskopis pengaruh ekstrak terpurifikasi pada organ hepar tikus Wistar

Keterangan:

a : Organ hepar yang diberi larutan suspensi CMC-Na

b : Organ hepar yang diberi ekstrak terpurifikasi kelopak rosella dosis 100 mg/kg BB

c : Organ hepar yang diberi ekstrak terpurifikasi kelopak rosella dosis 200 mg/kg BB

d : Organ hepar yang diberi ekstrak terpurifikasi kelopak rosella dosis 400 mg/kg BB

PEMBAHASAN

Perbedaan hasil rendemen ekstrak dengan penelitian sebelumnya (Sari *et al.*, 2016) disebabkan oleh beberapa faktor meskipun hasil memperoleh sampel dari tempat tumbuh yang sama, diantaranya pengaruh suhu ataupun iklim yang sedang terjadi. Sehingga hasil mendapatkan sampel juga berpengaruh pada kualitas dan kuantitas. Selain itu sifat zat aktif tanaman atau senyawa metabolit sekunder tanaman dan jenis kepolaran dari pelarut dapat mempengaruhi hasil ekstraksi (Rezki *et al.*, 2015).

Karakterisasi spesifik dari ekstrak terpurifikasi kelopak bunga rosella memenuhi persyaratan yang tercantum dalam monografi Farmakope Herbal Indonesia. Hal ini menunjukkan bahwa kualitas ekstrak purifikasi tersebut mampu menjamin senyawa bioaktif yang bertanggung jawab terhadap efek farmakologi.

Gambaran makroskopis hepar tikus wistar pada semua kelompok baik kelompok kontrol ataupun kelompok perlakuan dosis 100, 200 dan 400 mg/kg BB tidak menunjukkan adanya kelainan ataupun perubahan bermakna. Organ hepar tidak mengalami pengerasan, permukaannya halus dan warnanya terlihat merah kecoklatan atau merah pekat. Hal ini sesuai dengan penelitian Liwandouw *et al.*, (2017) menunjukkan bahwa hepar yang normal memiliki permukaan rata dan halus serta berwarna merah kecoklatan, sedangkan hepar yang tidak normal memiliki permukaan berbintik-bintik, terdapat kista dan mengalami perubahan warna. Penelitian terdahulu oleh Kurniawan *et al.*, (2014) organ hepar yang normal terlihat berwarna merah pekat, jika ditekan terasa agak keras.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak terpurifikasi rosella tidak memberikan efek toksik pada organ tikus Wistar terutama pada hepar, hal ini bisa terjadi karena pada rosella mengandung senyawa antosianin yang memberi efek hepatoprotektif (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014). Percobaan pada penelitian Sireeratawong *et al.*, (2013) tentang uji toksisitas ekstrak air kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) pada hewan coba menunjukkan bahwa ekstrak rosella tidak menyebabkan kerusakan di pankreas, hepar atau ginjal.

SIMPULAN

Karakter spesifik ekstrak terpurifikasi memenuhi syarat yang tercantum dalam monografi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella pada Farmakope Herbal Indonesia dan tidak memiliki pengaruh di organ hepar pada tikus Wistar.

SARAN

Sebaiknya dilakukan uji aktivitas farmakologi dari masing-masing kelompok hewan uji, kemudian dari organ yang dibedah tidak hanya diamati secara makroskopis.

REFERENSI

- Adeyemi, D.O., Ukwenya, V.O., Obuotor, E.M., Adewole, S.O., 2014. Anti-hepatotoxic activities of *Hibiscus sabdariffa* L. in animal model of streptozotocin diabetes-induced liver damage. *BMC Complement. Altern. Med.* 14, 277. doi:10.1186/1472-6882-14-277.
- Astuti Indah S., Tulandi Maximus S., Ulfa Maria D. 2011. *Serial Buku Ajar Analisis Farmasi dan Makanan, Analisa Obat Tradisional*. Politeknik Kesehatan Kemenkes Jakarta II.
- Barhe A.T., Tchouya Feuya R.G., 2016. Comparative study of the anti-oxidant activity of the total polyphenols extracted from *Hibiscus sabdariffa* L., *Glycine max* L. Merr., yellow tea and red wine through reaction with DPPH free radicals. *Arabian Journal of Chemistry*. Issue 9. Halm. 1 – 8.
- BPOM RI, 2005. Standarisasi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, salah satu Tahapan Penting dalam Pengembangan Obat Asli Indonesia. *Info POM*.

- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., Heinrich, M., 2014. Hibiscus sabdariffa L. - A Phytochemical And Pharmacological Review. *Food Chem.* 165, 424–443. doi:10.1016/j.foodchem.2014.05.002.
- Handarini, K., 2016. Potensi Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Sebagai Pewarna dan Pengawet Alami Pada Jelly Jajanan Anak. *Heuristic J. Tek. Ind.* 11.
- Hopkins, A.L., Lamm, M.G., Funk, J., Ritenbaugh, C., 2013. *Hibiscus sabdariffa* L. in The Treatment Of Hypertension And Hyperlipidemia: a Comprehensive Review of Animal and Human Studies. *Fitoterapia* 85, 84–94. doi:10.1016/j.fitote.2013.01.003.
- Kurniawan Yoga Andi W.I., Wiratmini I.N., Sudatri W.N., 2014. Histologi Hati Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Diberi Ekstrak Daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*). *Jurnal Simbiosis II* (2): 226 - 235. Udayana.
- Liwandouw R.J., Simbala H., Bodhi Widdhi. 2017. Pengaruh Ekstrak Etanol Buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) Terhadap Gambaran Makroskopis Organ Hati Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi. Unsrat.* Vol. 6. No. 3. ISSN : 2302 - 2493.
- Morales, G., Paredes, A., Olivares, A., Bravo, J., 2014. Acute Oral Toxicity And Anti-Inflammatory Activity Of Hydroalcoholic Extract From *Lampaya medicinalis Phil* in rats. *Biol. Res.* 47, 6. doi:10.1186/0717-6287-47-6.
- Ojeda, D., Enrique Jiménez-Ferrer, E., Enrique, A., Herrera-Arellano, A., Tortoriello, J., & Alvarez, L. (2010). Inhibition Of Angiotensin Convertin Enzyme (Ace) Activity By The Anthocyanins Delphinidin-And Cyanidin-3-O-Sambubiosides From *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Ethnopharmacology*. Retrieved October 2, 2015.
- Rezki, R. S., Anggoro, D., & Mz, S. (2015). Ekstraksi Multi Tahap Kurkumin Dari Kunyit (*Curcuma domestica* Valet) Menggunakan Pelarut Etanol. *Jurnal Teknik Kimia Usu, Article In Press*.
- Sari, R.P., 2015. Pengaruh Jenis Solvent Terhadap Stabilitas Zat Warna Pada Ekstrak Kelopak Bunga Rosella Dengan Metode Analisa Spektrofotometer (*Solvents Effect To Substance Stability Of Rosella Flower Extract With Spectrophotometer Analysis Method*) (Other). Undip.
- Sari, Fita., Nurkhasanah., Bachri Saiful Moch. 2016. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Kelopak Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Pada Tikus *Sprague Dawley*. *Trad. Medicine Journal. Universitas Gajah Mada.* Vol. 21 (1). Halm. 12-18.

- Sireeratawong, S. (2013). Toxicity Studies Of The Water Extract From The Calyces Of *Hibiscus sabdariffa* L. In Rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* (2013) 10 (4):122-127, 10 (4), 122–127.
- S. Pramono., D. Ajiastuti. 2004. Standardisasi Ekstrak Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) Berdasarkan Kadar Asiaticosida secara KLT- Densitometri. *Majalah Farmasi Indonesia*. Vol. 15 (3). Halm. 119 - 123.