

Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscussabdariffal.*) dan Madu Mangga Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus Mutans*

Sayyidati MA'RUF AH¹⁾, Nuzul Wahyuning DIYAH¹⁾, ISNAENI^{1*)}

¹⁾Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga

^{*)} Corresponding Author, Jl. Dharmawangsa Dalam Surabaya 60286, e-mail : isna.yudi@gmail.com

ABSTRAK

Streptococcus mutans adalah bakteri Gram-positif yang dikenal sebagai penyebab utama karies gigi, yang dapat dicegah antara lain dengan agen antibakteri. Aktivitas antibakteri ekstrak air kelopak bunga Rosella dan madu mangga terhadap bakteri Gram positif dan negatif telah dilaporkan pada penelitian sebelumnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak air bunga Rosella, madu mangga, dan kombinasi keduanya. Rasio optimum ekstrak air bunga Rosella dan madu mangga yang menghasilkan aktivitas hambatan maksimum terhadap bakteri *Streptococcus mutans* juga ditentukan, dan kemudian ditentukan nilai KHM kombinasi keduanya pada rasio optimum. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar pada nutrient agar dan menggunakan klindamisin sebagai obat standar pembandingan. Nilai KHM ekstrak air dari kelopak bunga Rosella dan madu mangga masing-masing adalah 60,6% dan 17,50%. Rasio optimum 1% ekstrak air bunga Rosella dan 50% madu mangga adalah 1:9 dengan KHM 25%.

Kata kunci: daya hambat pertumbuhan, madu manga, ekstrak air Rosella, *Streptococcus mutans*

ABSTRACT

Streptococcus mutans is a Gram-positive bacterium known as the main cause of dental caries. Dental caries can be prevented by applying antibacterial agents. Antibacterial activity of aqueous extract of Roselle calyx and mango honey has been proven in various studies. The objectives of this research were to determine Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the aqueous extract of Roselle calyx, mango honey, and their combination. Optimal ratio of the combination which exhibited maximum antibacterial activity against *Streptococcus mutans* was also observed and the MIC of this optimal combination was determined. The antibacterial activity test was performed by agar diffusion method in nutrient agar and using Clindamycin as a reference drug. The MIC of aqueous extract of Roselle calyx and mango honey were 60,6% and 17,50%, respectively. The optimum ratio of 1% aqueous extract of Roselle calyx and 50% mango honey was 1:9 with MIC was 25%.

Keywords: growth inhibitory, mango honey, aqueous extract of Roselle calyx, *Streptococcus mutans*

PENDAHULUAN

Streptococcus mutans adalah bakteri Gram positif termasuk salah satu anggota kelompok viridians *Streptococcus* (Brooks *et al.*, 2013), yang bersifat anaerobik dan dapat memproduksi asam laktat sebagai bagian dari metabolismenya (Simon, 2007). *S. mutans* dikenal sebagai penyebab utama terjadinya karies gigi, karena sifat asidogenik dan asidurik (Korithoski *et al.*, 2005). Asam yang dihasilkan menyebabkan pH dalam rongga mulut menjadi turun di bawah nilai kritis sehingga mengakibatkan demineralisasi jaringan gigi (Selwitz *et al.*, 2007).

Karies gigi dapat dicegah dengan jalan mengontrol plak, yang dapat dilakukan secara mekanis, seperti menyikat gigi, dan secara kimiawi, seperti penggunaan bahan aktif yang bersifat antibakteri untuk menekan pertumbuhan *S. mutans* (Faradiba *et al.*, 2016). Penggunaan bahan aktif antibakteri yang berasal dari tanaman telah banyak dilaporkan, misalnya rosella (*Hibiscussabdariffa* L.) (Alaga *et al.*, 2014), yang mengandung senyawa aktif asam fenolat, alkaloid, antosianin, gosipetin serta asam (Higginbotham *et al.*,

2014). Ekstrak air kelopak bunga rosella dilaporkan mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, dan *Porphyromonas gingivalis* dengan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) masing-masing sebesar 7,2 mg/mL, 28,8 mg/mL, dan 7,2 mg/mL (Sulistiyani *et al.*, 2016).

Bahan alam lain yang memiliki aktivitas antibakteri dan telah banyak dimanfaatkan adalah madu (Aggad and Guemour., 2014). Madu memiliki banyak jenis bergantung pada asal *nectar*, sehingga tiap jenis madu memiliki warna, aroma, rasa, dan juga aktivitas biologis yang berbeda (Ratnayani *et al.*, 2012). Madu diketahui memiliki potensi antibakteri berspektrum luas (Atwa *et al.*, 2014), yang antara lain dipengaruhi oleh kadar hidrogen peroksida dan keasaman madu, yang menyebabkan rusaknya dinding sel, dan tekanan osmotik tinggi yang mengakibatkan dehidrasi sel (Nadhilla, 2014). Faktor-faktor tersebut dapat bekerja sendiri maupun bekerja secara sinergis. Hidrogen peroksida memiliki kontribusi utama terhadap aktivitas antibakteri dalam madu. Konsentrasi hidrogen peroksida yang berbeda dalam madu yang berbeda jenis

akan menimbulkan variasi aktivitas antibakteri. Penelitian lain melaporkan bahwa jenis madu yang berbeda mengakibatkan perbedaan aktivitas antibakteri (Mandal & Mandal, 2011). Madu manuka menunjukkan KHM 10% terhadap *S. mutans*. Pada konsentrasi 10%, madu manuka dapat mempengaruhi pembentukan biofilm *S. mutans* dan dapat menghambat produksi dekstran oleh *S. mutans* (Badet & Quero, 2011). Hermawati (2016) meneliti aktivitas antibakteri kombinasi madu mangga dengan susu probiotik terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang menghasilkan KHM masing-masing sebesar 7,5% dan 6,25%. Dalam penelitian tersebut digunakan madu mangga dengan konsentrasi awal 50%.

Berdasarkan nilai KHM, ekstrak air bunga rosella memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan madu mangga 50%. Apabila keduanya dikombinasi, maka selain akan memperbaiki rasa ekstrak yang sangat asam, juga diharapkan akan meningkatkan aktivitas antibakteri, khususnya daya hambatnya terhadap pertumbuhan *S. mutans* galur lokal. Penelitian ini dilakukan untuk menetapkan KHM ekstrak air bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*), madu mangga (*Mangifera indica*) dan kombinasinya. Optimasi kombinasi dua bahan pada berbagai perbandingan dilakukan untuk menetapkan rasio dengan aktivitas tertinggi, selanjutnya ditetapkan nilai KHM kombinasi hasil optimasi.

METODE PENELITIAN

Alat

Cawan petri, kawat Öse, neraca analitik (Sartorius BL210S), pipet mikro (Soccorex), jangka sorong (Jason), pH meter (SCHOTT glass mainz tyoe CG 842), piknometer (IWAKI PICNO-25M), viskosimeter Ostwald, vortex (161700 mixer), spektrofotometer (Thermo Fisher Scientific 5225 Verona Road), inkubator aerob (Menmert), otoklaf (HL-340 series vertical type steam sterilizer).

Bahan

Serbuk kering ekstrak air kelopak bunga rosella (PT ASIMAS), madu mangga yang diperoleh dari Desa Kronto, Kecamatan Lumbang, Kabupaten Pasuruan, Media agar Mueller-Hinton (OXOID), Natrium klorida *p.a* (Merck), Membran filter (Whatman), Klindamisin (PT Indo Farma), *Streptococcus mutans* galur lokal (Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya).

Jalannya Penelitian

Preparasi Media Uji.

Media pertumbuhan bakteri dibuat dari serbuk agar Mueller-Hinton 38 gram yang dilarutkan dalam 1 liter air suling. Dibuat *base layer* dari 12 mL larutan media agar tersebut dan *seed layer* dari 8 mL media dalam cawan petri.

Preparasi inokulum bakteri uji.

Biakan *Streptococcus mutans* segar berumur 24 jam pada media agar miring Mueller Hinton

disuspensikan dalam larutan NaCl 0,9% steril, untuk memperoleh kerapatan bakteri dengan transmitansi 25% pada 580 nm dan diatur hingga mencapai dengan larutan NaCl 0,9%.

Preparasi larutan obat standar.

Dibuat larutan induk klindamisin sulfat dalam air suling (1 mg/mL), kemudian dibuat pengenceran dengan larutan steril NaCl 0,9% sampai diperoleh konsentrasi 0,01 ppm.

Preparasi larutan ekstrak air rosella.

Dibuat larutan induk serbuk kering ekstrak air bunga rosella dalam air suling (1 g/100 mL). Dari larutan tersebut, dibuat seri pengenceran hingga diperoleh kadar 9; 8; 7; 6; 5; 2,5; 1,25; 0,62; 0,31 mg/mL. Larutan ekstrak disaring dengan membran filter steril ukuran 0,22 µm.

Preparasi larutan madu.

Dibuat larutan induk madu mangga 50 g dalam air suling 100 mL (konsentrasi 50%). Dibuat seri pengenceran hingga diperoleh larutan madu dengan konsentrasi 25; 22,5; 20; 17,5; 15; 12,5; 10; 6,25; 3,12; 1,56 (% b/v). Masing-masing larutan disaring dengan membran filter steril ukuran 0,22 µm.

Preparasi larutan uji kombinasi ekstrak rosella-madu mangga.

Dibuat campuran dari larutan ekstrak bunga rosella 1% (b/v) dan larutan madu mangga konsentrasi 50% (b/v) dalam berbagai perbandingan, masing-masing 1;9, 2;8, 3;7, 4;6, 5;5, 6;4, 7;3, 8;2, 9;1 dengan volume akhir 20,00 mL. Larutan kombinasi ekstrak rosella-madu mangga difiltrasi dengan membran filter ukuran 0,22 µm.

Uji aktivitas antibakteri.

Penentuan KHM dari larutan ekstrak bunga rosella, madu mangga, dan kombinasinya dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan pencadangan sumuran (*hole*) (FI Ed. V, 2014). Media uji yang sudah siap, yaitu terdiri dari 12 mL *base layer* dan 8 mL *seed layer* yang mengandung 5 µL inokulum bakteri uji, dilubangi dengan alat pencetak untuk membentuk beberapa sumuran, yang berdiameter 7,5 mm. Masing-masing lubang diisi dengan larutan uji dan obat standar sebanyak 50 µL. Media uji dalam cawan petri yang sudah berisi larutan uji dan standar diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar lubang diukur dan dinyatakan dalam milimeter.

Analisis Data

Untuk membandingkan daya hambat kombinasi larutan ekstrak bunga rosella dan larutan madu mangga terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* yang dinyatakan sebagai diameter zona hambat digunakan ANOVA *one-way* menggunakan uji Tuckey-HSD.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak bunga rosella yang digunakan dalam penelitian adalah ekstrak kering dari rebusan kelopak

bunga rosella dalam air yang telah diteliti oleh Zettira (2016), dan madu mangga yang digunakan telah diteliti oleh Hermawati (2016). Ekstrak air kelopak bunga rosella tersebut telah dikarakterisasi dan hasilnya ditampilkan pada Tabel 1. Madu mangga yang digunakan telah memenuhi persyaratan Standar Nasional Indonesia (SNI) dan karakter fisikokimianya ditampilkan pada Tabel 1 (Hermawati, 2016).

Hasil karakterisasi sifat fisikokimia kombinasi ekstrak bunga rosella dan madu mangga pada Tabel 1 menunjukkan bahwa terjadi perubahan jika dibandingkan dengan sifat fisik masing-masing, yaitu ekstrak air kelopak bunga rosella 1% dan madu mangga 50% (b/v), namun nilai pH masih tetap asam, sehingga aktivitas antibakterinya akan dapat dipertahankan.

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Sifat Fisikokimia Kombinasi Ekstrak Bunga Rosella 1% (b/v) dan Madu Mangga 50% (b/v) pada Perbandingan 1:9

Sifat Fisik*	Kombinasi (1:9)	Ekstrak Bunga Rosella (1%)	Madu Mangga (50%)
Warna	Coklat kemerahan	Coklat kehitaman	Coklat kemerahan
Bau	Berbau tajam	Tidak berbau	Harum tajam
Rasa	Manis	Asam	Manis
pH	3,85 ± 0,04	2,58 ± 0,01	4,58 ± 0,01
Berat Jenis (g/mL)	1,102 ± 5 x 10 ⁻⁴	1,003 ± 5,77 x 10 ⁻⁴	1,158 ± 0,002
Viskositas	4,22 ± 0,21	1,48 ± 0,04	5,62 ± 0,35

*Keterangan : pemeriksaan dilakukan sebanyak tiga kali replikasi

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Kombinasi Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosella 1% (b/v) dan Madu Mangga 50% (b/v) dalam Berbagai perbandingan terhadap *Streptococcus mutans* galur lokal

Perbandingan R : M*	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
1:9	17,60	16,85	17,40	17,28 ± 0,39
2:8	12,10	12,00	12,25	12,11 ± 0,12
3:7	14,50	14,80	14,95	14,75 ± 0,23
4:6	13,80	13,50	13,35	13,55 ± 0,23
5:5	13,60	13,35	13,15	13,37 ± 0,22
6:4	14,60	14,40	14,20	14,40 ± 0,2
7:3	14,80	15,10	14,10	14,67 ± 0,51
8:2	12,75	13,10	12,90	12,92 ± 0,17
9:1	13,85	14,10	13,15	13,70 ± 0,49
K	24,70	24,50	25,00	24,73 ± 0,25
R	15,00	14,75	14,20	14,65 ± 0,41
M	19,15	19,05	20,00	19,40 ± 0,52

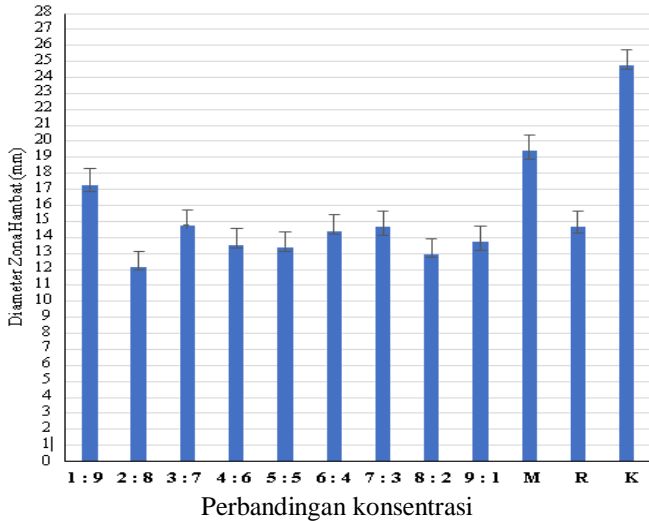
Tabel 3. Hasil Penentuan KHM Kombinasi Ekstrak Bunga Rosella 1% (b/v) dan Madu Mangga 50% (b/v) pada perbandingan 1:9 dalam Berbagai Konsentrasi (% v/v) terhadap *Streptococcus mutans* galur lokal.

Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata ± SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
50%	15,10	14,60	16,55	15,17 ± 1,01
25%	13,20	12,40	13,50	13,03 ± 0,57
12,5%	-	-	-	-
6,25%	-	-	-	-
3,12%	-	-	-	-
1,56%	-	-	-	-

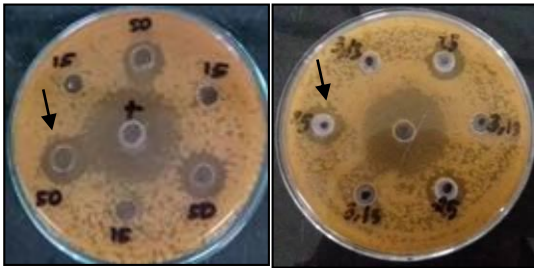
Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, nilai KHM larutan madu mangga 50% dan ekstrak bunga rosella 10% terhadap *Staphylococcus aureus*, masing-masing adalah 0,6% (v/v) dan 8% (v/v). Nilai KHM ekstrak air rosella yang diperoleh pada penelitian tersebut lebih rendah dibandingkan hasil yang dilaporkan oleh Sulistyani dkk. (2016). Fenomena ini dapat disebabkan oleh perbedaan kualitas bahan baku, antara lain habitat, musim pemanenan, dan proses pembuatan ekstrak.

Pada penelitian ini optimasi rasio ekstrak bunga rosella dan madu mangga masing-masing dibuat dari larutan dengan konsentrasi di atas nilai KHM. Hasil pengukuran diameter zona hambat kombinasi ekstrak air kelopak bunga rosella 1% dan madu mangga 50% (b/v) dalam berbagai perbandingan tersaji pada Tabel 2 dan Gambar 1. Hasil ANOVA diameter zona hambat antar larutan uji menunjukkan nilai $p < 0,05$ sehingga diameter zona hambatan yang dihasilkan masing-

masing larutan uji berbeda secara bermakna. Kemudian dari uji Tuckey-HSD diperoleh nilai $p < 0,05$ antara larutan uji kombinasi 1:9 dengan kombinasi semua dengan kombinasi pada rasio lainnya. Berdasarkan data pada tabel dan gambar tersebut kombinasi yang menunjukkan aktivitas tertinggi teramati pada rasio 1:9 dengan diameter zona hambat $17,28 \pm 0,39$ mm. perbandingan sehingga diameter zona hambat untuk kombinasi dengan rasio 1:9 berbeda secara bermakna.



Gambar 1. Diagram Daya hambat terhadap *Streptococcus mutans* dari : kombinasi ekstrak bunga rosella 1% (b/v) (R) dan madu mangga 50% (b/v) (M) dalam berbagai perbandingan, kontrol positif klindamisin 0,01 ppm (K).



Gambar 2. Diameter zona hambat pada uji aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* kombinasi ekstrak bunga rosella 1% (b/v) dan madu mangga 50% (b/v) pada perbandingan 1:9, konsentrasi 25% (sebelah kiri) dan 50% (sebelah kanan), kontrol positif klindamisin 0,01 ppm (+).

Pada kondisi awal, KHM larutan ekstrak rosella lebih rendah dibandingkan larutan madu mangga, karena perbedaan kandungan senyawa aktif. Fenomena tersebut sesuai dengan hasil optimasi rasio ekstrak rosella dan madu mangga 1:9 yang menghasilkan aktivitas hambatan maksimum lebih tinggi dibandingkan rasio yang lain. Perbandingan tersebut akan bergeser apabila digunakan persentase larutan madu yang lebih besar.

Klindamisin digunakan sebagai pembanding, karena telah terbukti mampu menghambat bakteri-

bakteri fakultatif anaerob. Klindamisin termasuk antibakteri oral yang memiliki farmakokinetik dan farmakodinamik yang adekuat untuk melawan oral patogen secara efektif (Dar-Odeh *et al.*, 2010). Konsentrasi klindamisin yang digunakan sebesar 0,01 ppm, berdasarkan hasil orientasi diameter zona hambat antara konsentrasi 0,01 – 0,05 ppm yang memberikan diameter zona hambat berada pada rentang respon yang diamati.

Hasil uji daya hambat dan penentuan KHM kombinasi ekstrak rosella dan madu mangga rasio 1:9 dapat dilihat pada Tabel 3, yang menunjukkan KHM kombinasi ekstrak rosella 1% dan madu mangga 50% dalam rasio 1:9 adalah 25%. Pertimbangan untuk tujuan efisiensi, digunakan larutan madu 50%, sehingga apabila dikembangkan formula minuman ekstrak rosella-madu dapat dihasilkan sediaan yang tidak terlalu asam, tetapi aktivitas daya hambat terhadap pertumbuhan mikroba uji tetap dapat dikembangkan, walaupun lebih rendah dibandingkan masing-masing komponen. Sesuai dengan hasil karakterisasi pada Tabel 1 nilai pH kombinasi dengan rasio 1:9 masih tetap asam sehingga aktivitas antibakteri nya masih tetap dapat dipertahankan.

KESIMPULAN

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak air (serbuk kering) kelopak bunga rosella 1,0 %, larutan madu mangga 50,0 %, dan kombinasinya pada perbandingan 1:9 terhadap *Streptococcus mutans* masing-masing adalah 0,6% (v/v), 17,5% (v/v), dan 25% (v/v).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Dra. Hermawati Anindita H., MS. yang telah membantu penyediaan madu mangga dan kepada Bapak Bakir yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini di Ruang Praktikum Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada PT Asimas Lawang yang telah menyediakan ekstrak kering kelopak bunga rosella.

DAFTAR PUSTAKA

- Aggad, H., Guemour, D. (2014). Honey Antibacterial Activity. *Medicinal & Aromatic Plants* 3 (2): pp.2-3.
- Alaga, T. O., Edema, M. O., Atayese, A. O., Bankole, M. O. (2014). Phytochemical and in vitro Anti-Bacterial Properties of *Hibiscus sabdariffa* L. (Roselle Juice). *Journal of Medicinal Plants Research* 8 (6): pp.339-444.
- Atwa, A., Abushahba, R. Y., Mostafa, M., Hashem, M. I., (2014). Effect of Honey in Preventing Gingivitis and Dental Caries in Patients Undergoing Orthodontic Treatment. *The Saudi Dental Journal* 26 (3) : pp.108-14.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. (2010). Serial Data Ilmiah Terkini Tumbuhan Obat : Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Jakarta : Direktorat Obat Asli Indonesia. Deputi Bidang Pengawasan

- Obat Tadisional, Kosmetik, dan Produk Komplemen. Badan Pengawas Obat dan Makanan. pp.2-3.
- Badet, C., Quero, F. (2011). The in vitro Effect of Manuka Honeys on Growth and Adherence of Oral Bacteria. *Anaerobe* 17 (1) : pp.19– 22.
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., Mietzner, T. A. (2013). Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. 26th ed. United States: *The McGraw-Hill Companies*, Inc : pp.99-201, 371-375.
- Dar-Odeh, N. S., Abu-Hammad, O. M., Al-Omiri, M. K., Khasirat, A. S., Shehabi, A. A. 2010. Antibiotic Prescribing Practices by Dentists: A Review. *Therapeutics and Clinical Management* (6): pp.301-306.
- Faradiba, A., Gunadi, A., Praharani, D. (2016). Daya Antibakteri Infusa Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) terhadap *Streptococcus mutans* (Antibacterial Activity of Asam Jawa Leaf Infuse (*Tamarindus indica* L.) against *Streptococcus mutans*). *Pustaka Kesehatan* 4 (1): pp.55–60.
- Hermawati, A. H. (2016). Aktivitas Kombinasi Madu Mangga (*Mangifera indica*) dan Susu Probiotik sebagai Antibakteri terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 8739 dan *Eschericia coli* ATCC 6538. Tesis. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya
- Higginbotham, K. L., Burris, K. P., Zivanovic, S., Davidson, P. M., Stewart, C. N. (2014). Aqueous Extracts of *Hibiscus sabdariffa* Calyces as an Antimicrobial Rinse on Hot Dogs against *Listeria monocytogenes* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Food Control* 40. Elsevier Ltd: pp.274–277.
- Korithoski, B., Krastel, K., Cvitkovitch, D. G. (2005). Transport and Metabolism of Citrate by *Streptococcus mutans*. *Journal of Bacteriology* 187 (13): pp.4451–4456.
- Mandal, M. D., Mandal, S. (2011). Honey: Its Medicinal Property and Antibacterial Activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 1 (2): pp.154–160.
- Nadhilla, N.F. 2014. *The Activity of Antibacterial Agent of Honey Against Staphylococcus aureus*. *J Majority* 3 (7): pp.94–101.
- Ratnayani, K., Laksmiwati, A. A., Septian, P. N. (2012). Kadar Total Senyawa Fenolat pada Madu Randu dan Madu Kelengkeng Serta Uji Aktivitas Antiradikal Bebas dengan Metode Dpph (Difenilpikril Hidrazil). *Jurnal Kimia* 6 (2): pp.163–168.
- Selwitz, R. H., Ismail, A. I., Pitts, N. B. (2007). Dental Caries. *The Lancet* 369 (4): pp.51–59.
- Simon, L. (2007). The Role of *Streptococcus mutans* And Oral Ecology in The Formation of Dental Caries. *Lethbridge Undergraduate Research Journal* 2 (2): pp.1–6.
- Sulistiyani, H., Fujita, M., Miyakawa, H., Nakazawa, F. (2016). Effect of Roselle Calyx Extract on *in vitro* Viability and Biofilm Formation Ability of Oral Pathogenic Bacteria. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 9 (2): pp.119–124.
- Zettira, N. Z. (2016). Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Air Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) – HPMC 6000 terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Surabaya.